Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin
Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und
der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. L. Koslowski

DAS VERHALTEN DES KOHLENHYDRATSTOFFWECHSELS UND ENERGIEREICHER PHOSPHATE NACH EXPERIMENTELLEM TOURNIQUET - SCHOCK

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)

der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Michael Parys

aus Rottweil

1979

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin
Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und
der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. L. Koslowski

DAS VERHALTEN DES KOHLENHYDRATSTOFFWECHSELS UND ENERGIEREICHER PHOSPHATE NACH EXPERIMENTELLEM TOURNIQUET - SCHOCK

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)

der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Michael Parys

aus Rottweil

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Dr.H.-E.Hoffmeister
1.Berichterstatter: Prof.Dr.W.Heller
(Prof.Dr.R.Schorer)
2.Berichterstatter: Prof.Dr.J.Durst
(Prof.Dr.L.Koslowski)

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	
1. Problemstellung und Ausgangspunkt	1
2. Pathophysiologie und Pathobiochemie des Tourniquet-Syndroms	3
B. Experimenteller Teil	
1. Untersuchungsmaterial	16
2. Prämedikation und Narkose	16
3. Anlegen des Tourniquet	16
4. Gruppeneinteilung	17
5. Blutentnahme	17
6. Organentnahme	18
7. Homogenisieren	19
8. Bestimmung von Lactat	19
9. Bestimmung von Pyruvat	20
10. Bestimmung von 2,3-DPG	20
11. Bestimmung von ATP	21
12. Bestimmung von Glucose	22
13. Bestimmung von F-1.6-P_2 und DAP	22
14. Bestimmung von ADP und AMP	23
15. Statistik	24
C. Ergebnisse	25
D. Diskussion der Ergebnisse	40
E. Zusammenfassung	48
F. Abkürzungen	50
G. Literaturverzeichnis	52
H. Tabellenanhang	60

Lebenslauf

A. Einleitung

1. Problemstellung und Ausgangspunkt

Eine längerdauernde Extremitätenischämie führt sowohl an der betroffenen Extremität als auch im Gesamtorganismus zu einer Reihe charakteristischer Veränderungen:
An der betroffenen Extremität sind eine Muskelzellschädigung und ein postischämisches Ödem nachweisbar (KOLETSKY und GUSTAVSON 1946). Die Folgen für den Gesamtorganismus sind abhängig von Ischämiedauer und Größe des Ischämiebezirkes. Typische Folgen sind eine Hypovolämie mit Hämokonzentration, eine Hyperkaliämie, eine Myoglobinurie und eine Azidose. Die gefürchtesten Komplikationen sind der irreversible Schock und das akute Nierenversagen (KOSLOWSKI 1959, VAN DER MEER et al. 1966, EIGLER 1975). All diese nach einer langdauernden Extremitätenischämie auftretenden lokalen und systemischen Veränderungen werden unter dem Begriff des Tourniquet-Syndroms zusammengefaßt.

Die Ursachen für eine Extremitätenischämie in der Klinik sind vielfältig: Der akute Verschluß einer Femoralarterie wird z.B. am häufigsten nach einer Embolie oder nach einer Thrombose bei vorbestehender Arteriosklerose beobachtet. Auch schwierige rekonstruktive Eingriffe am Gefäßsystem können, besonders bei bereits vorgeschädigten, schlecht durchbluteten Extremitäten, zu einem Postischämiesyndrom führen. Verspätete Versorgung von Gefäßverletzungen, z.B. nach suprakondylären Humerus- und Femurfrakturen sowie stundenlanges Abklemmen der Femoral- oder Iliakalgefäße durch Unglücksfälle sind weitere typische Ursachen für ein Tourniquet-Syndrom (EIGLER 1975).

Die Aufklärung der Pathophysiologie und Pathobiochemie des Tourniquet-Syndroms durch klinische Untersuchungen steht vor der Schwierigkeit, daß die gefundenen Ergebnisse meist nicht untereinander vergleichbar sind, weil einerseits die Verschlußlokalisation und damit die Ausdehnung des Ischämiebezirkes und andererseits die Dauer der Ischämie nicht exakt bestimmt werden kann. Manchmal spielen auch

schwer objektivierbare Vorschäden an der Muskulatur eine Rolle. Solche Vorschäden sind z.B. bei arterieller Verschlußkrankheit Grad III und IV in Folge von Arteriosklerose zu erwarten (EIGLER 1975).

Auf Grund der angeführten Schwierigkeiten hat sich zur Untersuchung der pathophysiologischen und pathobiochemischen Veränderungen beim Tourniquet-Syndrom das Tierexperiment bewährt. Das Tourniquet-Schock-Syndrom ist tierexperimentell gut definiert, die gefundenen Ergebnisse sind reproduzierbar und miteinander vergleichbar. Bereits 1946 beschrieben KOLETSKY und GUSTAVSON hämodynamische Veränderungen in Folge von Plasmaverlust beim Tourniquet-Schock von Ratten. Pathophysiologische Veränderungen wurden später von ANDREE et al. (1957), KOSLOWSKI (1959), VAN DER MEER et al. (1966), PANTELIC (1967), EIGLER (1969 und 1975), SOLONEN et al. (1968), WILGIS (1971) und BRÜCKNER et al. (1971) beschrieben. Die bei diesen Untersuchungen bestimmten Parameter waren Pulsfrequenz, Blutdruck, Herzminutenvolumen, peripherer Widerstand, Hämatokrit, pH-Wert, pO_2, pCO_2, Natrium, Kalium, Lactat und Pyruvat im venösen Blut der ischämischen Extremität vor und nach Revaskularisation. Neuere Arbeiten von KRISTEN et al. (1969), HABERLAND (1969), EIGLER et al. (1969), BRÜCKNER et al. (1972) und HEUGEL et al. (1973) befaßten sich mit der Rolle der Plasmakinine beim Tourniquet-Schock. Eine Beteiligung des Kininsystems konnte jedoch bis jetzt nicht nachgewiesen werden (STOCK et al. 1975).

Der pathophysiologische Ablauf des Tourniquet-Schocks läßt sich auf Grund der Ergebnisse dieser Arbeiten folgendermaßen kurz skizzieren: In der Frühphase des Schocks kommt es zu einer Hypovolämie und einem Anstieg des Hämatokrits in Folge starker Plasmaexsudation in der geschädigten Extremität. Daraus resultiert ein Abfall des Herzminutenvolumens. Der anaerobe Stoffwechsel führt zu einem Abfall des ATP's bei gleichzeitigem Anstieg des Lactats. Die Muskelzellschädigung führt zu einem Austritt von Kalium in den Interzellularraum. Nach Revaskularisation ist im Blut eine

Azidose und eine Hyperkaliämie nachweisbar.

Daraus leiten sich in der Frühphase des Tourniquet-Schocks folgende therapeutische Konsequenzen ab: Zufuhr von Volumen, Anregung der Diurese, Ausgleich der Azidose und der Hyperkaliämie (EIGLER 1975). Trotz erfolgreicher Behandlung des Schocks in der Frühphase kommt es jedoch in einzelnen Fällen zu einem protrahierten Schock oder es tritt ein akutes Nierenversagen auf. Dafür sind in erster Linie Stoffwechselveränderungen in der Spätphase des Tourniquet-Schocks verantwortlich zu machen. In dieser Hinsicht ist das Tourniquet-Syndrom bis zu einem gewissen Grade mit dem Verbrennungsschock vergleichbar: Auch in der Spätphase der Verbrennungskrankheit kommt es zu einer nicht mehr beeinflußbaren Stoffwechselentgleisung und schließlich zum exitus letalis (KOSLOWSKI 1970). Ob diese Stoffwechselentgleisung dadurch zustande kommt, daß die Kraftreserven des Organismus durch einen gesteigerten Metabolismus erschöpft werden (SCHUMER und KUKRAL 1968) oder ob in Analogie zum Verbrennungsschock Toxine eine Rolle spielen (KOSLOWSKI 1970, SCHOENENBERGER et al. 1974, LEVANDOVSKI et al. 1974), läßt sich noch nicht entscheiden.

Ziel vorliegender Arbeit ist es, durch die Bestimmung der Metabolitengehalte der Glykolyse und der energiereichen Phosphate ADP und ATP in Blut, Herz, Leber und Niere weitere Aufschlüsse über die Stoffwechselverhältnisse der Früh- und Spätphase des Tourniquet-Syndroms zu bekommen.

2. Pathophysiologie und Pathobiochemie des Tourniquet-Syndroms

a) Muskelzellschädigung

CHIU et al. (1976) bestimmten als Maß für die Muskelzellschädigung die CPK in der Femoralvene und im Kreislauf nach verschieden lang dauernder Unterbindung einer Extremität bei Hunden. Nach einstündiger Ischämie wurde keine Änderung in der CPK-Konzentration festgestellt. Nach zweistündiger Ischämie trat eine Stunde nach Revaskularisation

nach dreistündiger Ischämie sofort nach Revaskularisation ein CPK-Anstieg auf. Der verzögerte CPK-Anstieg nach zweistündiger Ischämie läßt sich damit erklären, daß nicht alle Muskelgruppen nach Offnen des Tourniquet sofort wieder durchblutet werden, sondern in manchen Muskelgruppen die Durchblutung erst 1 3/4 Stunden nach dem Öffnen wieder einsetzt, was als "No-Reflow" bezeichnet wird (STROCK und MANJO 1969).

Reversible pathologisch-anatomische Veränderungen der Muskelzellen wurden beim Menschen bereits nach zweistündiger Ischämie beobachtet (SOLONEN et al. 1968). Beim Kaninchen traten hochgradige Veränderungen nach dreistündiger Ischämie in jedem Muskel auf (DÄHLBACK 1970).

b) Postischämisches Ödem

Für die Ursache des postischämischen Ödems gibt es vier verschiedene Erklärungsmöglichkeiten:
- LAUBACH und Mitarbeiter (1972) machen Lymphbahnverletzungen für das Zustandekommen des postischämischen Ödems verantwortlich: Sie konnten postoperativ lymphangiographisch einen Lymphstau feststellen.
- HILBE und Mitarbeiter sehen in venösen Rückflußstörungen 1972 die Ursache des postischämischen Ödems.
- STOCK und Mitarbeiter wiesen 1975 darauf hin, daß das schnelle Auftreten des postischämischen Ödems durch obengenannte Mechanismen nicht erklärbar ist und machen andere Faktoren dafür verantwortlich: Durch den anaeroben Stoffwechsel kommt es während der Ischämie zur Anhäufung von sauren Metaboliten im Gewebe, damit zu einem Abfall des pH-Wertes und außerdem, weil das osmotisch wenig wirksame Glykogen in Lactat verwandelt wird, zu einer Zunahme der Osmolarität hauptsächlich intrazellulär. In den ersten zehn Minuten nach Revaskularisation kommt es somit, bedingt durch das osmotische Druckgefälle zwischen hypertonen Zellen und isotonem Blut, zu einem Wassereinstrom in die Zellen. Weiterhin konnte er durch immunelektrophoretische Untersuchungen der Ödemflüssigkeit nachweisen, daß es postischä-

misch zu einer starken Zunahme der Gefäßpermeabilität kommt und die Kapillarmembran für fast alle Serumproteine ungehindert durchlässig wird. In dieser zweiten Phase der Ödementwicklung erfolgt somit eine Filtration von Serum ins Interstitium (STOCK et al. 1975). Außerdem wird die Ödementwicklung noch begünstigt durch die postischämisch zu beobachtende Hyperämie, für welche es ebenfalls mehrere Erklärungsmöglichkeiten gibt: Manche Autoren sehen die Ursache in der Anhäufung vasodilatierender Metaboliten oder machen O_2- Mangel und CO_2- Anhäufung für die Hyperämie verantwortlich. Andere sehen die Hauptursache im Versagen der neurovaskulären Gefäßregulation. STOCK und Mitarbeiter (1975) wiesen darauf hin, daß der irreversible Zusammenbruch der energiereichen Phosphate zu einem Versagen der Gefäßmuskulatur und damit zu einer Vasodilatation führt.

- Daß auchdas Kininsystem am Auftreten des postischämischen Ödems beteiligt ist, konnte bis jetzt nicht eindeutig nachgewiesen werden. STOCK und Mitarbeiter (1975) fanden auch nach fünfstündiger Extremitätenischämie keine Änderung des Plasma-Kininogen-Spiegels. Andererseits kann eine Beteiligung lokaler Kinine an der Ödementwicklung nicht ausgeschlossen werden.

c) Hypovolämie und Hämokonzentration

Durch den Wasser- und Plasmaverlust in die Zellen bzw. ins Interstitium kommt es zu einer starken Hämokonzentration und einem Abfall des Herzminutenvolumens (HMV). Der Abfall des HMV bewirkt eine Adrenalinausschüttung: Dadurch wird die Durchblutung der Nieren, des Darmes, der Extremitäten und der Haut stark gedrosselt, die Durchblutung von Herz und Gehirn bleibt nahezu unbeeinflußt, was zu einer Zentralisation des Kreislaufs führt. Die Strömungsgeschwindigkeit in den "abgeschalteten" Gefäßgebieten nimmt präkapillar stark ab. Bei niedriger Fließgeschwindigkeit steigt die Viskosität des Blutes mit abnehmender Geschwindigkeit exponentiell an (VERAGUT et al. 1973).

Wird ein kritischer Geschwindigkeitswert unterschritten, der beim Tourniquet-Syndrom in Folge Hämokonzentration höher liegt als bei normalem Hämatokritwert, so kommt es zur Sludge-Bildung, einer Disseminierten Intravasalen Gerinnung, damit zu einem Stillstand der Mikrozirkulation mit konsekutiver starker Hypoxie des Gewebes. In den Venulen führt die Adrenalin bedingte Zunahme des Gefäßtonus und die durch Abnahme der arterio-venösen Druckdifferenz bedingte Prästase zu einer Sequestration von Plasma ins Interstitium. Durch die Hypoxie der Peripherie erfolgt im weiteren Verlauf eine periphere Gefäßdilatation. Beide Mechanismen führen zu einer Abnahme des HMV und somit im Sinne eines Circulus vitiosus zu einem irreversiblen Schock.

d) Myoglobinurie

Aus der nach einer länger bestehenden Gewebeischämie bedingten Muskelzellnekrose resultiert bald nach Revaskularisation eine Einschwemmung von Myoglobin in den Blutkreislauf. Das Molekulargewicht von Myoglobin beträgt 17200. Es gelangt deshalb leicht in den Primärharn. Die Nierenschwelle liegt bei einer Plasmakonzentration von etwa 20 mg%. Ist die Plasmakonzentration wesentlich höher, so tritt eine Myoglobinurie auf. Eine makrokospisch sichtbare Myoglobinurie ist nach Zerstörung von etwa 200 g Muskelgewebe zu beobachten (EIGLER 1975).

e) Lactazidose und Hyperkaliämie

Bei Sauerstoffmangel kommt es zu einem Block der mitochondrialen Atmungskette. NADH kann auf Grund des Fehlen von NAD^+ nicht mehr oxidiert werden.

Durch die Atmungskette wird kein ATP mehr gebildet. Weil das Verhältnis von ATP zu ADP aber 1000:1 beträgt (BUDDECKE 1973), ist eine Änderung der Energieladung der Zelle, welche nach ATKINSON (1968) als Verhältnis von

$$\frac{ATP + 1/2\ ADP}{ATP + ADP + AMP}$$

definiert ist, eher an der Änderung der ADP-Konzentration bemerkbar, weil bereits geringe Änderungen der ATP-Konzentration zu wesentlich größeren Änderungen der ADP-Konzentration führen können (FÖRSTER und MEHNERT 1973).

Als Ersatzweg der Energiegewinnung bleibt der Zelle die anaerobe Glykolyse. Durch Sauerstoffmangel wird die Glucoseaufnahme in die Zelle und die Enzymaktivität der Hexokinase und der PFK gesteigert (REGEN et al. 1961). Die Aktivität der PFK, welche ein Schlüsselenzym der Glykolyse ist (CAHILL et al. 1959), wird außerdem durch AMP, ADP und anorganisches Phosphat erhöht (DENTON und RANDLE 1966, REGEN et al. 1964). Die Konzentrationen von F-1,6-P_2 und Pyruvat steigen an. Pyruvat kann in den Mitochondrien wegen NAD^+- Mangel nicht oxidiert werden. Es wird extramitochondrial unter Verbrauch des bei der Oxidation von GAP anfallenden NADH zu Lactat reduziert. Insgesamt wird

$$1 \text{ Mol Glc} \longrightarrow 2 \text{ Mol Lac} + 2 \text{ Mol ATP}$$

umgesetzt. Die Zelle kann somit bei Sauerstoffmangel durch eine gesteigerte Glykolyse einen stärkeren ATP-Abfall, welcher gleichbedeutend ist mit Verlust der mikrosomalen und funktionellen Integrität der Zelle, zunächst verhindern. Sind die Glucosevorräte erschöpft, so kommt es zu einem Abfall von ATP und durch Zerfall der energiereichen Phosphate zu einem Anstieg der Harnsäure (MIGONE 1962). Wegen Energiemangel versagt die Natriumpumpe der Zelle: Dies führt zu einem Natriumeinstrom in und einem Kaliumausstrom aus der Zelle, dann zu einer trüben Schwellung der Mitochondrien und schließlich zur Zellnekrose (FLENKER et al. 1975). Kalium wandert bis zur Isoionie in den Extrazellulärraum (EZR), was einer Zunahme des EZR's entspricht. Die Einschwemmung des Kaliums in die Blutbahn nach Revaskularisation zeigt sich an einer Hyperkaliämie. Die Hyperkaliämie verursacht Herzrhythmusstörungen und bei höheren Konzentrationen Kammerflimmern. Die Lactazidose hat einen negativ inotropen Effekt und verschlechtert damit zusätzlich die Herzleistung.

Das ausgeschwemmte Lactat wird jedoch in der Leber rasch zu Glucose umgebaut, sodaß der Lactatspiegel nach einem anfänglichen Maximum schnell wieder abfällt (EIGLER 1975).

Ein anaerober Stoffwechsel ist im Verlauf des Tourniquet-Syndroms aber nicht nur an der geschädigten Extremität, sondern durch Abnahme des HMV und der adrenalinbedingten Vasokonstriktion auch in anderen Organen (Leber, Niere, Muskel) zu beobachten.
In der Spätphase des Tourniquet-Schocks kommt es so zu einem erneuten Lactatanstieg und damit einer metabolischen Azidose, welche durch die Stoffwechselwirkungen des Adrenalins noch verstärkt wird, wie z.B. die gesteigerte Lipolyse und der dadurch bedingte Anstief der FFS im Blut.
Weil die Stoffwechselveränderungen durch Adrenalin denen des Insulinmangels sehr ähnlich bzw. eng miteinander verbunden sind, spricht man auch vom "Streßdiabetes" (SCHULZE und KAFFARNIK 1970). Die Stoffwechselveränderungen bei Insulinmangel und Adrenalinüberschuß werden an anderer Stelle eingehend besprochen.
Aus den Ausführungen folgt, daß die Todesursache beim Tourniquet-Syndrom nicht einheitlich ist, sondern daß mehrere Ursachen zusammenwirken: Wird die nach Revaskularisation auftretende akute Hypovolämie und Hyperkaliämie überlebt, so droht Gefahr von der metabolischen Azidose, welche zu einer Aktivierung lysosomaler Enzyme und damit zur Zellnekrose führt (VERAGUT 1971). Die metabolische Azidose kann noch verstärkt werden durch

- periphere Gewebshypoxie durch Abfall des HMV oder adrenalinbedingte Vasokonstriktion
- Stimulierung der Lipolyse durch Adrenalin und damit Anstieg der FFS im Serum
- Ketogenese in der Leber durch relativen Insulinmangel ("Streßdiabetes)
- Anstieg der Harnsäure durch Zerfall energiereicher Phosphate

Eine Abnahme der ATP-Konzentration im Verlauf eines Tour-

niquet-Syndroms kann in Leber, Niere und Skeletmuskel beobachtet werde (MIGONE 1962).
Wird auch diese Phase überlebt, so kommt es in manchen Fällen nach mehreren Tagen dennoch zu einem akuten Nierenversagen.

f) Nierenversagen

Die Rolle der Niere beim Tourniquet-Syndrom wurde von KOSLOWSKI bereits 1959 eingehend untersucht. Danach gibt es für das akute Nierenversagen mehrere Erklärungsmöglichkeiten:

- Minderdurchblutung der Niere durch nerval-reflektorische Drosselung bereits vor Öffnung der Blutsperre
- Minderdurchblutung durch Abfall des HMV und Zentralisation des Kreislaufs durch sympathoadrenale Stimulation
- Myoglobinurie, dafür spricht auch das Auftreten eines akuten Nierenversagens bei myoglobinurischen Krankheitsbildern, z.B. der pseudomyopathischen Polymyositis ohne typische Schocksymptomatik (KORZ und VOLZ-BOERS 1974). Eine myoglobinurische Nephrose konnte beim Kaninchen jedoch nicht beobachtet werden (MIGONE 1962).
- andere Eiweißabbauprodukte, die beim Zellzerfall frei werden und direkt zu einer Nierenschädigung führen (Toxintheorie, KOSLOWSKI 1959).

g) Einfluß von Insulinmangel und sympathoadrenaler Stimulation auf den Stoffwechsel

Adrenalin und Insulin haben auf den Stoffwechsel des Organismus eine weitgehend antagonistische Wirkung. Eine Erklärung dafür ergibt sich aus der Tatsache, daß Insulin und Adrenalin die intrazelluläre Konzentration von c-AMP (BIRKE et al. 1965) entgegengesetzt beeinflußen: Adrenalin erhöht über eine Aktivierung der Adenylcyclase die Konzentration von c-AMP, während nach Ansicht von HIMMS-HAGEN (1967) Insulin die Konzentration von c-AMP über eine Hemmung der Adenylcyclase absenkt. Von der c-AMP-Konzentration ist die Aktivität einer Reihe von Enzymen des Zucker-,

Fett- und Aminosäurestoffwechsels der Zelle abhängig. Weitere Stoffwechselwirkungen, insbesondere des Insulins, werden über den Mechanismus der Enzyminduktion vermittelt (CAHILL 1959).

Insulin bewirkt in Muskel- und Fettzelle einen verstärkten Glucoseeinstrom, weil diese Zellen einen insulinanhängigen Carrier-Mechanismus für Glucose besitzen (SCHULZE und KAFFARNIK 1970). Die Hexokinase und die leberspezifische Glucokinase werden über den Mechanismus der Enzyminduktion aktiviert. Es kommt zu einem Anstieg der G-6-P- Konzentration. G-6-P und Insulin aktivieren die Glykogensynthetase und somit wird verstärkt Glykogen gebildet. Die PFK und die Pyruvatkinase werden durch Insulin aktiviert (REGEN et al. 1961). Unter Insulineinfluß ist die Glykolyse deshalb gesteigert, während die Gluconeogenese in Leber und Niere über eine Hemmung der PEP-Carboxykinase vermindert ist (KALKHOFF et al. 1966). Die gesteigerte Glykolyse führt zu einem vermehrten Anfall von Acetyl-CoA, welches zu FFS synthetisiert werden kann, weil der Pentose-Phosphat-Shunt ebenfalls durch Insulin stimuliert wird und damit das zur Fettsynthese notwendige NADPH in ausreichender Menge verfügbar ist.Die FFS werden schließlich mit GP, das aus dem bei gesteigerter Glykolyse reichlich vorhandenen DAP gebildet wird, in der Leber zu Fett und schließlich zu Lipoproteinen synthetisiert.
Im Blut wird durch Insulin die LPL-Aktivität gesteigert, FFS strömen vermehrt in die Fettzellen ein, die Liponeogenese wird gesteigert. Gleichzeitig wird die Lipolyse über einen insulinbedingten Abfall des c-AMP und der dadurch bedingten Hemmung der TGL blockiert (SCHULZE und KAFFARNIK 1970).
Aus den Wirkungen des Insulins auf den Stoffwechsel leiten sich die bei Insulinmangel zu erwartenden Stoffwechselveränderungen ab:
Beim akuten Insulinmangel kommt es in Leber und Muskel durch gesteigerte Glykogenolyse und eine Hemmung der PFK zu einem raschen Anstieg an G-6-P. G-6-P stimuliert, Insu-

lin dagegen hemmt die nur in Leber und Niere vorkommende G-6-Phosphatase, welche G-6-P zu Glucose und anorganischem Phosphat spaltet. Die Blutglucosekonzentration steigt an, wegen der gehemmten Glykolyse sind F-1.6-P_2, DAP und Lactat in der Zelle erniedrigt (KALKHOFF et al. 1966).
Bei chronischem Insulinmangel kommt es in den Fettzellen zu einem Anstieg des c-AMP, weil die hemmende Wirkung des Insulins auf die Adenylcyclase wegfällt. Die TGL-Aktivität ist erhöht, FFS und Glyzerin im Blut steigen an. Die FFS wiederum haben eine insulinantagonistische Wirkung (DELORME 1965). Die bei chronischem Insulinmangel zu erwartenden Stoffwechselveränderungen in den einzelnen Organen lassen sich deshalb nur unter Einbeziehung der Stoffwechselwirkungen der FFS erklären.

Die Glucoseaufnahme in die Muskelzelle wird bei Insulinmangel auf der einen Seite gehemmt, weil diese Zellen einen insulinabhängigen Carrier besitzen, auf der anderen Seite, weil auch der Anstieg der FFS die Glucoseaufnahme in die Zellen blockiert (HIMMS-HAGEN 1967).
Als alternative Energieversorgung wird die ß-Oxidation der vermehrt vorhandenen FFS gesteigert: In den Mitochondrien kommt es zu einem erhöhten Anfall von Acetyl-CoA und NADH. Die Reaktion

$$\text{Pyr} + \text{NAD}^+ \longrightarrow \text{Ac-CoA} + \text{NADH}$$

wird im Sinne der Produkthemmung blockiert, die Pyruvatverwertung durch Einschleußung in den Zitronensäurezyklus damit verhindert. Acetyl-CoA aktiviert die Pyruvat-Carboxylase (UTTER et al 1964):

$$\text{Pyr} + \text{CO}_2 \longrightarrow \text{Oxalac}$$

In einer Nachfolgereaktion wird Oxalacatat und Acetyl-CoA zu Citrat synthetisiert, welches die Mitochondrienmembran passieren kann. Citrat hemmt die Aktivität der PFK (DENTON und RANDLE 1966). Die Glucoseverwertung der Muskelzelle wird somit direkt durch Insulinmangel (Carrier und Wegfall der PFK-Aktivierung) sowie indirekt über die FFS mehrfach blockiert.

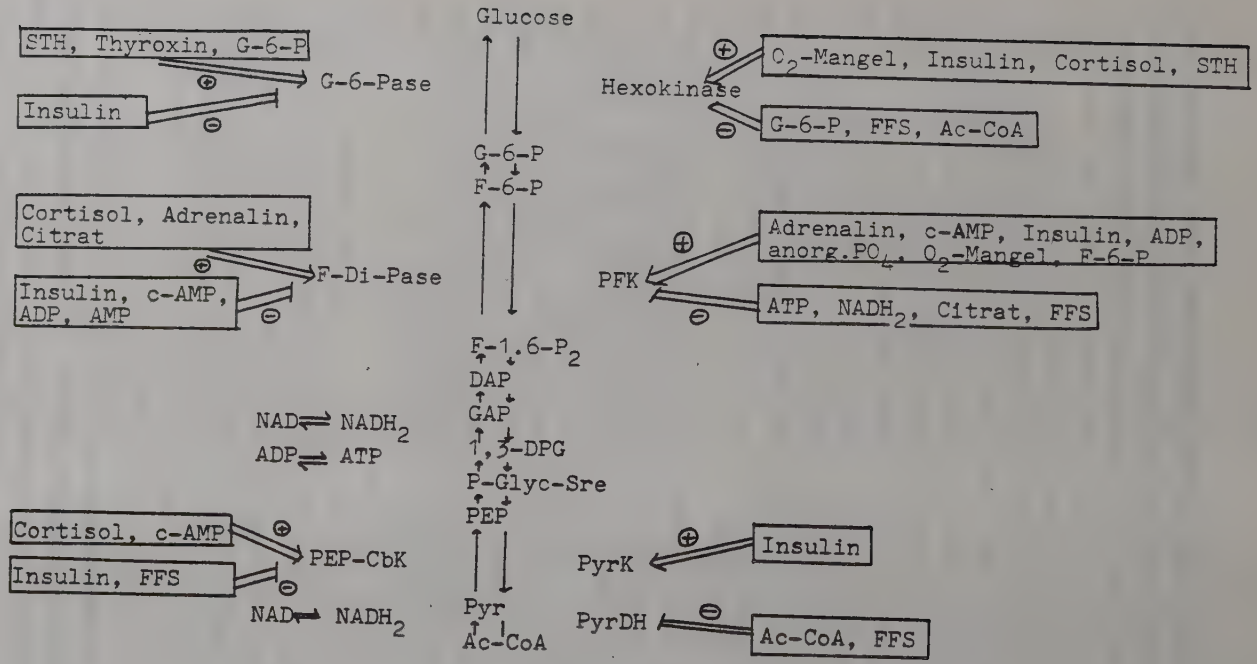

Abb.1a zeigt schematisch den Ablauf der Glykolyse und der Gluconeogenese sowie die Faktoren, welche hemmend bzw. aktivierend auf die Schlüsselenzyme einwirken.

⊖ = Hemmung, ⊕ = Aktivierung

Das Acetyl-CoA kann nach folgender Reaktion in den Zitronensäurezyklus eingeschleust werden:

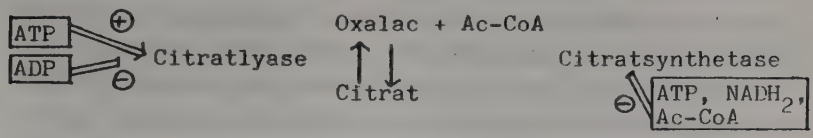

Abb.1b: Einschleusung des Acetyl-CoA in den Zitronensäurezyklus. ⟶| = Hemmung, ⟶ = Aktivierung

Auch in der Leber kommt es bei Insulinmangel zu einer Verstärkung der ß-Oxidation und damit zu einer Ausschleusung von Citrat. Dieses wird jedoch durch das Enzym Citratlyase, dessen Aktivität von der ATP-Konzentration abhängt, zu Oxalacetat und Acetyl-CoA gespalten. Oxalacetat kann für die Gluconeogenese verwandt werden. Bei chronischem Insulinmangel ist die Gluconeogenese in der Leber gesteigert, weil die hemmende Wirkung des Insulins auf die PEP-Carboxykinase wegfällt. Die intrazelluläre Konzentration an F-1.6-P_2 und DAP ist normal und auch das G-6-P ist wegen der starken Aktivierung der G-6-Phosphatase nicht mehr erhöht (KALKHOFF et al. 1966).
Oxalacetat kann extramitochondrial aber auch zu Malat reduziert und schließlich zu Pyruvat decarboxyliert werden:

$$NADP^+ + Malat \longrightarrow Pyr + CO_2 + NADPH$$

Pyruvat diffundiert in die Mitochondrien zurück und insgesamt kommt es also zu einer Ausschleusung von Acetyl-CoA und NADPH, den Grundbausteinen der Fettsynthese, aus den Mitochondrien (ATKINSON 1968).
Durch die erhöhte Konzentration von FFS werden jedoch die für die FFS-Synthese notwendigen Enzyme Acetyl-CoA-Carboxylase und Malonyl-CoA-Synthetase gehemmt. Weil außerdem durch die verstärkte Gluconeogenese das für die Startreaktion des Zitronensäurezyklus notwendige Oxalacetat absinkt (durch vermehrte Ausschleusung von Citrat), ist auch die Acetyl-CoA- Verwertung über den Zitronensäurezyklus gebremst. Die hohe Konzentration von Acetyl-CoA führt

schließlich zur Kondensation von 3 Molekülen Acetyl-CoA zu ß-Hydroxy-methyl-glutaryl-CoA, welches zu Acetyl-CoA und Acetoacetat aufgespalten wird. Acetoacetat wird durch Decarboxylierung zu Aceton oder durch Reduzierung zu ß-Hydroxybutyrat umgewandelt. Aceton, ß-Hydroxybutyrat und Acetoacetat werden als Ketokörper bezeichnet; sie führen zu einer acidotischen Stoffwechsellage (SCHULZE und KAFFARNIK 1970).
Das aus dem Fettgewebe freigesetzte Glyzerin wird teilweise zur Gluconeogenese, teilweise zur Fettsynthese verwandt. Die Leber ist bestrebt, die anströmenden FFS zu Fett zu synthetisieren und schließlich als Lipoproteine ans Blut abzugeben. Der begrenzende Faktor ist dabei die Proteinsynthese: Der Anstieg des c-AMP führt zu einer Hemmung der AS-Aufnahme (HIMMS-HAGEN 1967). Außerdem ist die für die Proteinsynthes notwendige Energiebereitstellung wegen Hemmung des Zitronensäurezyklus und wegen Energieverbrauch für die Gluconeogenese beeinträchtigt. Das Fett kann nicht abtransportiert werden und führt zur Fettleber (SCHULZE und KAFFARNIK 1970).

Adrenalin erhöht die Konzentration an c-AMP. Dadurch kommt es im Pankreas zu einer Hemmung der Insulinfreisetzung (PORTE et al. 1966), damit zu einem relativen Insulinmangel (s.o.). In den Fettzellen bewirkt die erhöhte c-AMP-Konzentration eine gesteigerte Lipolyse mit entsprechenden Stoffwechselveränderungen (s.o.).

In der Leber wird über das erhöhte c-AMP die Phosphorylase aktiviert. Die Glykogenvorräte werden abgebaut, G-6-P in der Leber und Blutzucker steigen sofort an (MIGONE 1962). Später kommt es einerseits durch eine direkte Aktivierung der Enzyme der Gluconeogenese (HIMMS-HAGEN 1967), andererseits durch den relativen Insulinmangel und die erhöhte Konzentration an FFS zu einer verstärkten Gluconeogenese. Diese wird auch dadurch begünstigt, daß Adrenalin die ACTH-Freisetzung und damit die Cortisolbildung stimuliert.

Cortisol verstärkt die Gluconeogenese durch Aktivitätserhöhung der PEP-Carboxykinase und Fructodiphosphatase. Die Umwandlung von Aminosäuren in Glucose wird beschleunigt. Dadurch und durch die bereits oben erwähnte Blockade der AS-Aufnahme durch c-AMP kommt es zu einem starken Abfall der intrazellulären AS-Konzentration, die Ausbildung einer Fettleber wird zusätzlich begünstigt.

In der Muskelzelle führt die Adrenalinausschüttung ebenfalls zu einem Glykogenabbau und damit zu einem Anstieg an G-6-P. Weil die Muskelzelle keine G-6-Phosphatase besitzt, kann G-6-P nicht in Glucose umgewandelt werden. Adrenalin steigert jedoch in der Muskelzelle die Aktivität der PFK: Dies bewirkt eine verstärkte Glykolyse und damit eine verstärkte Lactatbildung. Lactat kann von der Leber via Gluconeogenese zu Glucose zurückverwandelt werden (CORI-Zyklus).
Alle genannten Mechanismen haben zum Ziel, die Blutglucosekonzentration auf einem hohen Niveau zu halten. Voraussetzung hierfür ist aber eine gute Leberfunktion. Bereits 2 Tage nach einer sympathoadrenalen Stimulation durch Trauma finden sich Zeichen einer Beeinträchtigung der Leberfunktion: Die Albumin-und Lipoproteinkonzentration sinkt ab (BIRKE et al. 1965), der AS-Metabolismus ist verlangsamt (SCHUMER und KUKRAL 1968). Durch die eingeschränkte Leberfunktion kommt es zu einem Abfall der Blutglucose. Der Beginn der Hypoglykämie wird als Zeichen des Übergangs vom reversiblen zum irreversiblen Schock gedeutet (MIGONE 1962).

Bei der Beurteilung der Ergebnisse vorliegender Arbeit sind alle aufgeführten Stoffwechselveränderungen, wie die nach Revaskularisation zu beobachtende Lactacidose in der Frühphase, die anschließende starke sympathoadrenale Reaktion und die eventuell drohende Hypovolämie mit Hypoxie der Gewebsperipherie, mit zu berücksichtigen.
Weil alle genannten Faktoren auch gleichzeitig wirksam sein können, wird es nicht immer einfach sein, herauszu-

finden, auf welche Ursache sich die beobachtete Stoffwechselveränderung zurückführen läßt.

B. Experimenteller Teil

Material und Methodik

1. Untersuchungsmaterial

Als Versuchstiere dienten Kaninchen mit einem Durchschnittsgewicht von 3500 g der Firma Schmid in Holzgerlingen. Die Tiere wurden der ganzen Versuchsdauer in Einzelkäfigen gehalten und konnten während des gesamten Versuchs Nahrung und Wasser ad libitum aufnehmen. Die Raumtemperatur betrug 18 bis 23° C.

2. Prämedikation und Narkose

Die Versuchstiere werden mit 0,5 mg Atropin (Atropinum sulfuricum Amphiole®) i.m. prämediziert. Anschließend wird in die Ohrvene ein Butterfly der Größe 21 G eingeführt. Das Narkosemittel Pentobarbital-Natrium (Nembutal®, Deutsche Abbott GmbH, 6507 Ingelheim/Rhein) wird in einer 10 ml- Spritze bis zur Marke 5 ml aufgezogen. Anschließend wird bis zur Marke 10 ml isotone Kochsalzlösung aufgezogen, das Narkosemittel also im Verhältnis 1:1 verdünnt. Durchschnittlich werden die Tiere mit 1,6 ml/kg Körpergewicht dieser Lösung injiziert. Nach diesem Schema werden die Narkosen sowohl für das Anlegen des Tourniquet-Schlauches als auch für die Blut- und Organentnahmen vorgenommen.

3. Anlegen des Tourniquets

Jeweils an der linken hinteren Extremität wird bei den Versuchstieren so weit wie möglich proximal ein Gummitourniquet angelegt. Dazu wird ein Stauschlauch von 8 mm Durchmesser verwendet. Der Schlauch wird von Hand vorgespannt und anschließend durch eine Kocherklemme fixiert. Danach wird bei allen Tieren zur Verminderung des postischämischen Extremitätenödems eine elastische Binde angewickelt. Durch zirkulär angebrachte Heftpflasterstreifen wird ein Verrutschen des Verbandes verhindert. Der Verband verbleibt

bei allen Tieren bis Versuchsende.

4. Gruppeneinteilung

Im Vorversuch werden 24 Versuchstiere in acht Dreiergruppen von A bis H eingeteilt. Bei diesen Tieren wird im Blut Lactat, Pyruvat, ATP und 2,3- DPG bestimmt. Im Hauptversuch werden weitere 30 Tiere in sechs Fünfergruppen von A' bis F' eingeteilt. Bei diesen Tieren wird im Blut Lactat, Pyruvat und Glucose bestimmt.sowie in Niere, Leber und Herz Glucose, Lactat, Pyruvat, ATP, ADP, F-1.6-P_2 und DAP. Nur in der Niere wird außerdem AMP bestimmt.
Für die Dauer der Ischämie und die Zeit für die Blut- bzw. Organentnahme gilt für die einzelnen Gruppen folgendes Schema:

Gruppe A und A': Kontrolltiere, kein Tourniquet, nur Blut- und Organentnahme
Gruppe B und B': 4 Stunden Ischämie, 1 Std. nach Öffnen des Tourniquet Blut- und Organentnahme
Gruppe C und C': 4 Stunden Ischämie, 1 Tag nach Öffnen des Tourniquet Blut- ind Organentnahme
Gruppe D und D': 4 Stunden Ischämie, 3 Tage nach Öffnen des Tourniquet Blut- und Organentnahme
Gruppe E und E': 4 Stunden Ischämie, 4 Tage nach Öffnen des Tourniquet Blut- und Organentnahme
Gruppe F und F': 4 Stunden Ischämie, 6 Tage nach Öffnen des Tourniquet Blut- und Organentnahme
Gruppe G: 3 Stunden Ischämie, 1 Std. nach Öffnen des Tourniquet Blutentnahme
Gruppe H: 3 Stunden Ischämie, 1 Tag nach Öffnen des Tourniquet Blutentnahme

5. Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgt durch Herzpunktion. Dazu wird das Versuchstier auf einem Operationstisch befestigt. Anschließend wird im 6. Intercostalraum links ein ca. 2 cm langer Schnitt angelegt. Der Intercostalraum wird durch einen Spreitzer offengehalten. Die schlagende rechte Herzkammer wird dann mit einem Butterfly der Größe 17 G punk-

punktiert. Die ersten Blutstropfen werden verworfen. Anschließend wird eine 5 ml- Spritze bis zur Marke 4 ml aufgezogen. Dieses Blut wird zur Bestimmung des Pyruvats in ein mit Eis vorgekühltes Zentrifugenglas, welches 4 ml 1,0 N Perchlorsäure enthält, eingespritzt. Dann wird eine 2 ml- Spritze aufgezogen. In vorgekühlte Zentrifugengläser, welche für die Bestimmung des Lactats 2 ml 0,6 N Perchlorsäure und für die Bestimmung des ATP's 4 ml 0,6 N Perchlorsäure enthalten, wird je 1 ml Blut eingespritzt. Für die Bestimmung des 2,3-DPG's wird ebenfalls 1ml Blut in 3 ml 8%ige Trichloressigsäure eingebracht. Für die Glucosebestimmung wird 1 ml Blut in ein Eppendorf-Mikrogefäß eingespritzt. Die Proben werden im Labor sofort weiterverarbeitet.

6. Organentnahme

Nach abgeschlossener Blutentnahme wird bei den 30 Tieren des Hauptversuchs nach einem Medianschnitt vom Sternum bis ca. 1 cm oberhalb der Symphyse die rechte Niere freipräpariert. Nach Durchtrennung der Gefäße und des Ureters wird die Niere einschließlich der Kapsel, jedoch ohne den Fettgewebskörper entfernt und sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren. Dazu wird das Organ in einen vorbereiteten Urinbecher, der am Boden und am Deckel jeweils vier Löcher hat (Durchmesser ca. 7 mm), gegeben. Durch den Deckel des Urinbechers ist ein 20 cm langer biegsamer Draht gezogen. Mit Hilfe des Drahtes wird der Becher in ein mit flüssigem Stickstoff gefülltes 10 l- Dewar- Gefäß eingebracht. Anschließend wird vom rechten Leberlappen durch einen Bogenschnitt ein Stück von ca. 3 cm Durchmesser entfernt. Es wird nach demselben Verfahren wie oben beschrieben in das Dewar- Gefäß eingebracht. Als letztes Organ wird das bereits freiliegende Herz in toto entfernt und ebenfalls in flüssigem Stickstoff eingefroren. Die Organpräparate werden bis zur Aufarbeitung in flüssigem Stickstoff aufbewahrt.

Der Zeitablauf der Blut- und Organentnahme erfolgt ungefähr nach folgendem Schema:

Freilegung des Herzens:	15 sec
Blutentnahme:	120 sec
Nierenpräparation und -entfernung:	50 sec
Leberentfernung:	30 sec
Herzentfernung:	40 sec
Gesamtdauer:	4 min 15 sec

7. Homogenisieren

Jedes Organ wird bei Raumtemperatur unter Übergießen mit flüssigem Stickstoff 10 bis 20 Minuten zermörsert und sofort für die Analyse abgewogen: Je 1 g Gewebepulver für die Bestimmung von Lactat, Glucose und ATP sowie für die Kombinationsbestimmung von F-1.6-P_2, DAP und GAP. 1,5 g werden für die Pyruvatbestimmung abgewogen und 2,5 g für die Kombinationsbestimmung von ATP und AMP.

8. Bestimmung von Lactat (HOHORST 1970)

Prinzip der Reaktion:

$$Lac + NAD^+ \xrightarrow{LDH} Pyr + NADH + H^+$$

Weil das Gleichgewicht der Reaktion auf der Seite von Lactat und NAD^+ liegt, werden zur Verschiebung des Gleichgewichts Protonen durchalkalisches Milieu abgefangen. Man arbeitet mit NAD^+- Überschuß.

Lösung 1: 0,5 M Glycinpuffer, pH 9,0, 0,4 M Hydrazin

Lösung 2: 27 mM NAD

Suspension 3: LDH = 650 U/ml

Zur Bestimmung von Lactat im Blut wird 1 ml Blut mit 2 ml eiskalter 0,6 N Perchlorsäure gemischt und anschließend 10 Minuten lang bei 5000 U/min zentrifugiert. Dann wird in Reagenzgläser pipettiert:

a) für den Leerwert: 2 ml Lösung 1, 0,2 ml 0,6 N Perchlorsäure, 0,2 ml Lösung 2 und 0,02 ml Suspension 3

b) für die Probe: 2 ml Lösung 1, 0,2 ml Überstand aus dem Zentrifugenglas, o,2 ml Lösung 2, 0,02 ml Suspension 3.

Die lösungen läßt man nach dem Mischen 1 Stunde in einem Wasserbad bei 25°C stehen.

Messung der Extinktion der Probe gegen Extinktion des Leer-

wertes. $E = E_P - E_L$, $c = 0{,}941 \times E$ (mg/g).
Durch Division mit dem Molekulargewicht von 90,1 erhält man die Konzentration in mMol/l.
Die Bestimmung des Metabolitengehaltes in den Organen erfolgt nach demselben Prinzip. 1 g Gewebepulver wird mit 2 ml 0,6 N Perchlorsäure gemischt, zentrifugiert und dann nach demselben Schema wie oben beschrieben bestimmt.

9. Bestimmung von Pyruvat (CZOK und LAMPRECHT 1974)
Prinzip der Reaktion:

$$\text{Pyr} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lac} + \text{NAD}^+$$

Lösung 1: 0,7 M Trikaliumphosphat
Lösung 2: 2,5 mM NADH
Suspension 3: 2 mg LDH/ml
4 ml Blut werden in 4 ml 1,0 N Perchlorsäure bzw. 1,5 mg Gewebepulver in 1,5 ml 1,0 N Perchlorsäure eingebracht. Anschließend wird mit 5000 U/min zentrifugiert. 2 ml werden vom Überstand abpipettiert und mit 1 ml der Lösung 1 gemischt und dann 15 Minuten lang ins eiskalte Wasserbad gestellt. Der Niederschlag wird abzentrifugiert, der Überstand auf 25°C erwärmt. 2 ml Überstand und 0,2 ml Lösung 2 werden in eine Glasküvette gegeben und die Extinktion E_1 bei einer Wellenlänge von 366 nm bestimmt. Nach Zugeben von 0,02 ml Suspension 3 wird die Extinktion E_2 bestimmt.
Berechnung: $E = E_1 - E_2$, $c = 0{,}082 \times E$ (mg/g),
Durch Dicision mit dem Molekulargewicht erhält man den Metabolitengehalt in mMol/g bzw. mMol/ml.

10. Bestimmung von 2,3-Diphosphoglycerinsäure (SIGMA CHEMICAL COMPANY 1974)
Prinzip der Reaktion:

1. $\text{2,3-DPG} \xrightarrow[\text{2-Phosphoglycolsäure}]{\text{2,3-DPGphosphatase}} \text{3-PG} + \text{Phosphat}$

2. $\text{3-PG} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{PGK}} \text{1,3-DPG} + \text{ADP}$

3. $\text{1,3-DPG} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GAPD}} \text{G-3-P} + \text{NAD}$

Gemessen wird die Extinktionsabnahme bei einer Wellenlänge von 340 nm in Folge der Oxidation von NADH zu NAD.

Lösung 1: 1 mg NADH und 8 ml Triäthanolaminpuffer
1 ml Blut wird mit 3 ml eiskalter 8%iger Trichloressigsäure gemischt und 10 Minuten lang bei 5000 U/min zentrifugiert. Danach wird in Glasküvetten pipettiert: a) für den Leerwert 2,5 ml Lösung 1, 0,1 ml ATP, 0,25 ml Wasser. Dazu fügt man 0,02 ml eines Enzymgemisches aus Glyceryl-aldehydphosphatdehydrogenase (GAPD) und Phosphoglycerat-Phosphokinase (PGK) sowie 0,02 ml Phosphoglyceratmutase (PGM). b) für die Probe: 0,25 ml Lösung 1, 0,02 ml PGM, 0,02 ml GAPD/PGK. Es wird die Extinktion E_1 und E_2 bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt. Die Konzentration in umol/ml errechnet sich nach : c= E x 7,7.

11. Bestimmung von ATP BÜCHER 1947)
Prinzip der Reaktion:

1. 3-PGA + ATP $\xrightarrow{PGK}$ 3-PGA-1-P + ADP
2. 3-PGA-1-P + NADH + H^+ $\xrightarrow{GAPDH}$ GAP + NAD^+
3. GAP $\rightleftharpoons^{TIM}$ DAP
4. DAP + NADH + H^+ $\xrightarrow{GDH}$ L-3-Glycerol + NAD^+

Die Extinktionsabnahme von NADH wird gemessen.
Lösung 1: 0,5 M Triäthanolaminpuffer, 4mMol Magnesiumsulfat, 6mMol Glycerat-3-phosphat
Lösung 2: 2,5 mM NADH
Suspension 3: GAPDH = 560 U/ml; PGK = 450 U/ml
GDH = 80 U/ml; TIM = 300 U/ml
1 ml Blut bzw. 1 g Gewebe werden in 4 ml 0,6 N eiskalte Perchlorsäure eingebracht. Nach dem Zentrifugieren (10 Minuten bei 5000 U/min) wird 0,2 ml Überstand mit 2 ml Lösung 1 und 0,2 ml Lösung 2 gemischt. Messung der Extinktion E_1 bei einer Wellenlänge von 366 nm. Dann wird die Suspension 3 dazugegeben und die Extinktion E_2 bestimmt.
Berechnung: $E = E_1 - E_2$, c = E x 4,51 (mg/g). Durch Division mit dem Molekulargewicht erhält man den Metabolitengehalt in mM/g.

12. Bestimmung von Glucose (WERNER et al. 1970)

Prinzip der Reaktion:

1. D-Glc + H_2O + O_2 $\xrightarrow{GOD}$ D-Gluconsäure + H_2O_2

2. H_2O_2 +ABTS (red.) $\xrightarrow{POD}$ H_2O + ABTS (ox.)

Gemessen wird die Extinktionsabnahme des Redoxinikators ABTS.

Lösung 1: 9,1 mg Glucose/100 ml

Lösung 2: 100 mM Phosphatpuffer, pH 7,0, POD = 0,8 U/ml, GOD = 10 U/ml, 1,0 mg ABTS/ml

0,1 ml Blut bzw. 0,1 g Gewebepulver werden mit 1 ml 8%iger eiskalter Perchlorsäure gemischt und 10 Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert. Dann wird pipettiert:

a) Leerwert : 0,1 ml Wasser, 5 ml Lösung 2

b) Standard : 0,1 ml Lösung 1 und 5 ml Lösung 2

c) Probe : 0,1 ml Überstand und 5 ml Lösung 2

Nach Mischung läßt man bei Raumtemperatur ca. 30 Minuten stehen und mißt dann die Extinktion bei einer Wellenlänge von 436 nm. $c = E_P/E_S$ (mg/g). Durch Division mit dem Molekulargewicht erhält man den Metabolitengehalt in mM/g.

13. Bestimmung von F-1.6-P_2 und DAP (MICHAL und BEUTTLER 1974)

Prinzip der Reaktion:

1: F-1.6-P_2 $\xrightarrow{Aldolase}$ DAP + GAP

2: GAP $\xrightleftharpoons{TIM}$ DAP

3. DAP + NADH + H^+ $\xrightleftharpoons{GDH}$ L-Glycerin-3-P + NAD^+

Gemessen wird die Extinktionsabnahme von NADH.

Lösungen:

1. 69 g Kaliumcarbonat mit H_2O ad 100 ml lösen
2. 7,7 ml Perchlorsäure (Dichte = 1,67) mit H_2O ad 150 ml verdünnen(= 6% $HClO_4$).
3. 18,6 g Triäthanolhydrochlorid in 200 ml H_2O lösen, 18 ml 2 N Natronlauge und 3,7 g EDTA-Na_2H_2 dazugeben und Wasser ad 250 ml auffüllen.
4. 7 mg NADH-Na_2 mit Lösung 3 bis 1,5 ml lösen

5. Glycerin-3-phosphat-Dehydrogenase: 1 mg Protein/ml
6. Triosephosphatisomerase: 50 g Protein/ml
7. Aldolase: 1,5 mg Protein/ml
8. Kaliumdichromat: 1 g mit Wasser ad 100 ml lösen.

1 g Gewebepulver wird mit 5 ml Lösung 2 gemischt. Dann wird pipettiert:
a) 1,5 ml Lösung 3, 1,5 ml vom Überstand aus dem Zentrifugenglas nach dem Zentrifugieren (10 min bei 5000 U/min). Die Lösung wird auf Raumtemperatur gebracht und die Ausgangsextinktion bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt. Dann wird Lösung 5 zugegeben (GDH) und nach 3 Minuten die Extinktion E_2 für DAP abgelesen. Nach Zugabe von Lösung 6 (TIM) und Lösung 7 (Aldolase), jeweils 0,01 ml, kann nach 3 Minuten die Extinktion E_3 für F-1,6-P_2 bestimmt werden.
Berechnung: DAP: E x 0,324 (uM/g)
F-1.6-P_2 : E x 0,163 (uM/g)

14. Bestimmung von ADP und AMP (JAWOREK et al. 1974)
Prinzip der Reaktion:

1. ADP + PEP $\xrightarrow{PK}$ ATP + Pyr
2. Pyr + NADH + H^+ $\xrightarrow{LDH}$ Lac + NAD^+
3. AMP + ATP $\xrightarrow{MK}$ 2 ADP

Lösung 1: 0,5 mol/l Triäthanolaminpuffer, 2 mol/l K_2CO_3
Lösung 2: 10 mmol/l Phosphoenolpyruvat, 1,3 mol/l KCl, 0,4 mol/l $MgSO_4$
Suspensionen von: 2,5 mmol/l NADH, 500 U/ml LDH, 100 U/ml PK und 720 U/ml MK
2,5 g Gewebepulver werden in 2,5 ml eiskalte 1 N Perchlorsäure eingebracht und 10 Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert. Dann wird in Küvetten pipettiert:
a) für den Leerwert: 2 ml Lösung 1, 0,2 ml Lösung 2, 0,2 ml NADH, 0,02 ml LDH. Es wird die Extinktion E_1 bestimmt.
b) für die ADP-Bestimmung wird 0,02 ml PK zugegeben und nach 5 Minuten die Extinktion E_2 bestimmt.
c) für die AMP-Bestimmung wird 0,02 ml MK zugegeben und

nach 5 Minuten die Extinktion E_3 bestimmt.

Berechnung: $c_{ADP} = (E_1 - E_2) \times 429$ (umol/g)

$$c_{AMP} = (E_2 - E_3) \times 7{,}5 \text{ (umol/g)}$$

Die Extinktion wird bei einer Wellenlänge von 340 nm abgelesen.

15. Statistik

Alle gefundenen Ergebnisse wurden nach dem U-Test auf Signifikanz geprüft. Der nach WILKOXON, MANN und WHITNEY benannte Test gilt für unabhängige Stichproben. Die zu vergleichenden Einzelwerte aus zwei Gruppen werden in eine gemeinsame aufsteigende Rangfolge gebracht, wobei zu jeder Rangzahl vermerkt wird, aus welcher Gruppe der zugehörige Wert stammt. Die Rangsumme der auf Gruppe 1 entfallenden Werte sei R 1, die Anzahl der Werte von Gruppe 2 n, die Rangsumme der auf Gruppe 2 entfallenden Werte sei R 2.
U 1 und U 2 lassen sich nach der Formel

$$U\,1 = mn + \frac{m(m+1)}{2} - R\,1$$

$$U\,2 = mn + \frac{n(n-1)}{2} + R\,2$$

berechnen.
Unterschreiten die U-Werte einen kritischen Wert, der in einer Tabelle abgelesen werden kann, so wird die Nullhypothese, daß beide Werte der gleichen Grundgesamtheit entstammen, verworfen (SACHS 1974). Auf diese Weise konnte bei einigen Werten mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % (Signifikanzniveau) gezeigt werden, daß sie nicht zufällig, sondern signifikant vom Normalwert abweichen. Diese Werte sind in den Kurven mit einem "s" bezeichnet.

C. Ergebnisse

Nachfolgend sind die Ergebnisse der Arbeit graphisch dargestellt. Die Werte bezeichnen dabei jeweils den Mittelwert einer Gruppe von Tieren und die Standardabweichung vom Mittelwert. Der Normalwert ist schraffiert eingezeichnet. Werte, die signifikant vom Normalwert abweichen, sind mit einem "s" gekennzeichnet. Die Einzelwerte des Versuchs und der statistischen Berechnungen werden im Tabellenanhang aufgeführt. Außer in Abb.2, in welcher die Lactat- und Pyruvat-Konzentration 1 Stunde und 1 Tag nach dreistündiger Extremitätenischämie dargestellt ist, beziehen sich alle weiteren Abbildungen auf eine vierstündige Ischämie.

I. Blut

Die Abbildungen 2 und 3 zeigen, daß die Lactat- und Pyruvatkonzentration im Blut eine Stunde nach Revaskularisation (n.Rv) sowohl nach dreistündiger(Abb. 2) als auch nach vierstündiger Ischämie (Abb.3) signifikant erhöht ist. Lactat ist bereits nach 1 Tag, Pyruvat nach 3 Tagen in den Normbereich zurückgekehrt und auch im weiteren Verlauf finden sich keine stärkeren Abweichungen vom Normalwert (Abb.3).

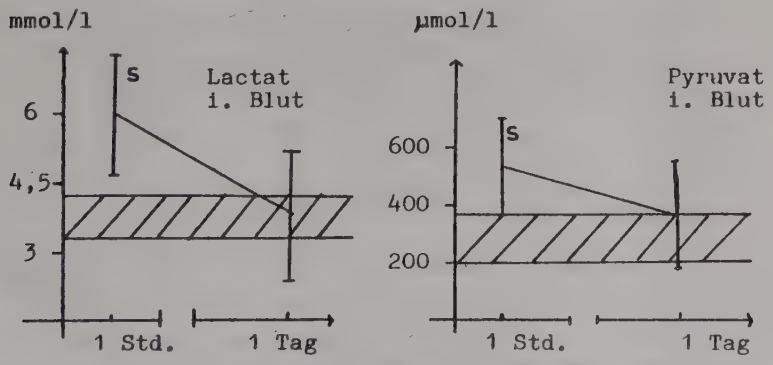

Abb.2: Lactat- und Pyruvat-Konzentration im Vollblut nach dreistündiger Extremitätenischämie

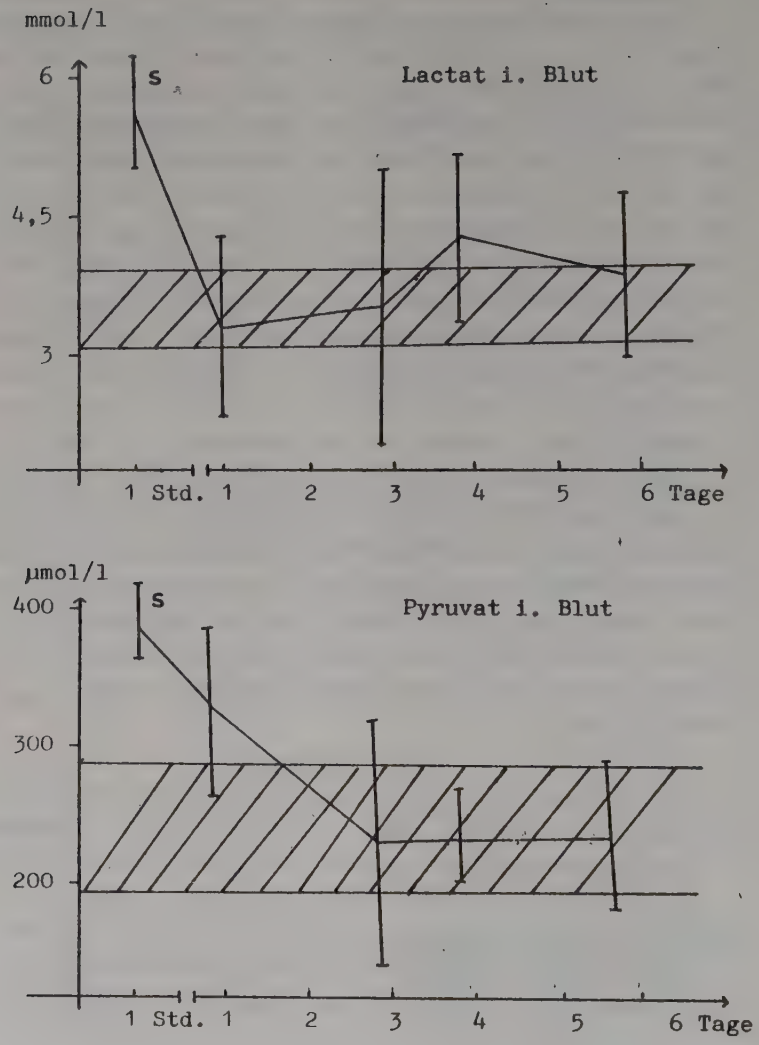

Abb.3: Lactat- und Pyruvat-Konzentration im Vollblut nach vierstündiger Extremitätenischämie

Der Lactat/Pyruvat-Quotient im Blut ist nach 1 Tag signifikant erniedrigt (Abb.4), bei allen übrigen Zeiten liegt er im Normbereich.

Das 2,3-DPG im Blut ist 1 Stunde und 1 Tag nach Revaskularisation stark erhöht (Abb.4), es folgt ein rascher Abfall zwischen dem 1. und dem 3.Tag, anschließend kommt es zur Normalisierung.

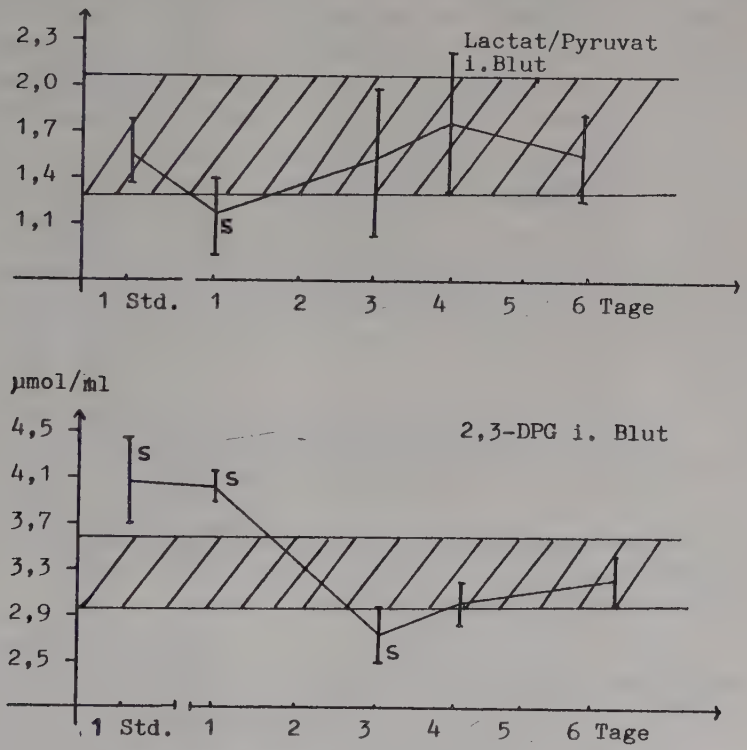

Abb.4: Lactat/Pyruvat-Quotient und 2,3-DPG-Konzentration im Vollblut nach vierstündiger Extremitätenischämie

Auch das ATP ist 1 Stunde und 1 Tag nach Revaskularisation signifikant erhöht, es bleibt jedoch bis zum 3.Tag hoch und fällt erst danach in den Normbereich zurück (Abb.5)

Vom 1. bis zum 3.Tag des Versuches ist eine ausgeprägte Hyperglykämie zu beobachten (Abb.5), ab dem 4.Tag liegen die Blutglucosewerte wieder im Normbereich. Es fällt weiterhin auf, daß sowohl der Normalwert als auch die Werte des 4. und 6.Tages nur geringe Standardabweichungen haben, während der Wert vom 1. und vom 3.Tag stärkeren Schwankungen unterworfen ist.

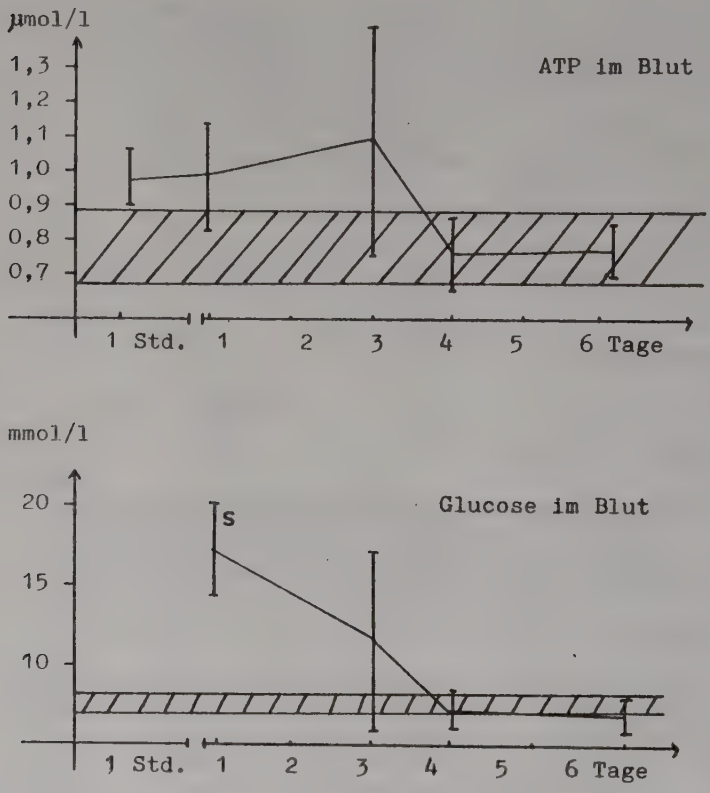

Abb.5: ATP- und Glucosekonzentration im Vollblut nach vierstündiger Extremitätenischämie

II. Organe

In der Niere ist die Verlaufskurve für das DAP wellenförmig mit signifikant erhöhten Werten nach der 1. Stunde und am 4.Tag (Abb.6).

Die Kurve von F-1.6-P_2 hat einen zum DAP spiegelbildlichen Verlauf mit erhöhten Werten am 1., 3. und 6.Tag (Abb.6).

Lactat ist nach 1 Stunde und am 1.Tag erhöht (Abb.7), später normalisiert sich der Wert.

Für Pyruvat (Abb.7) und ATP (Abb.8) können keine Abweichungen vom Normalwert festgestellt werden.

Der Lac/Pyr-Quotient ist nach der 1. Stunde bis zum 3.Tag leicht erhöht (Abb.7), vom 4. bis 6.Tag liegt er im Normbereich.

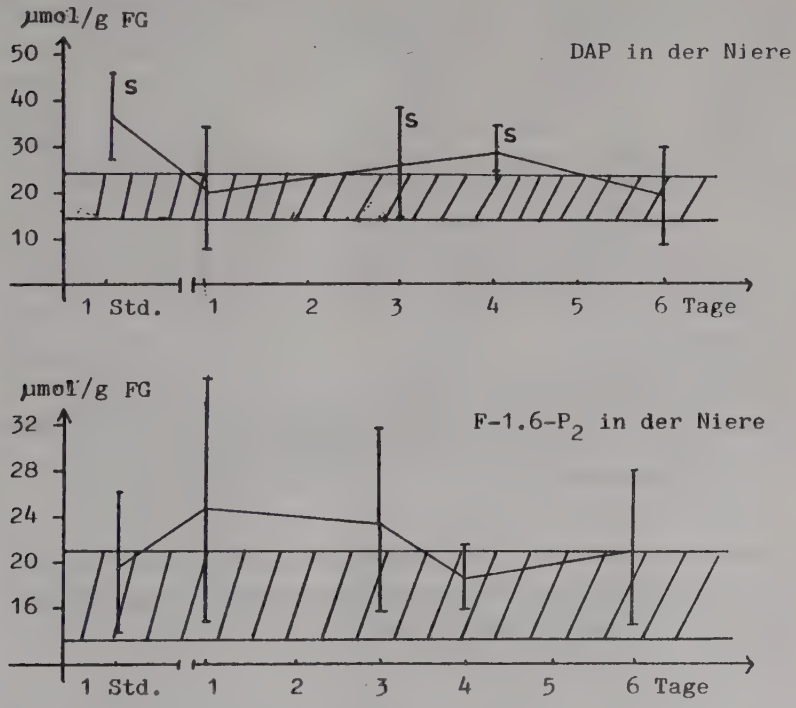

Abb.6: Konzentration an DAP und F-1.6-P_2 in der Niere nach vierstündiger Extremitätenischämie

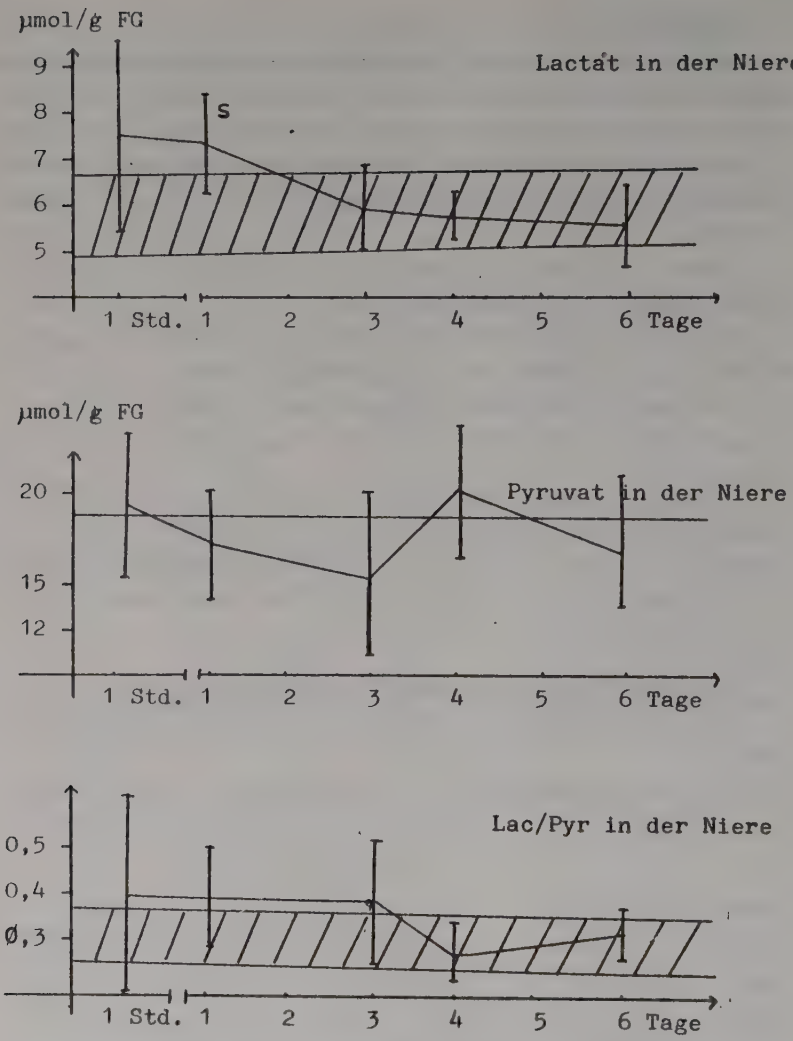

Abb.7: Lactat- und Pyruvat-Konzentration sowie Lac/Pyr-Quotient in der Niere nach vierstündiger Extremitätenischämie

AMP ist am 1.Tag leicht erhöht, dann liegt es im Normbereich (Abb.8).
Die Glucose ist nach der 1.Stunde signifikant erhöht (Abb.8), sie fällt am 1.Tag stark, später langsamer ab und liegt ab dem 4.Tag im Normbereich.

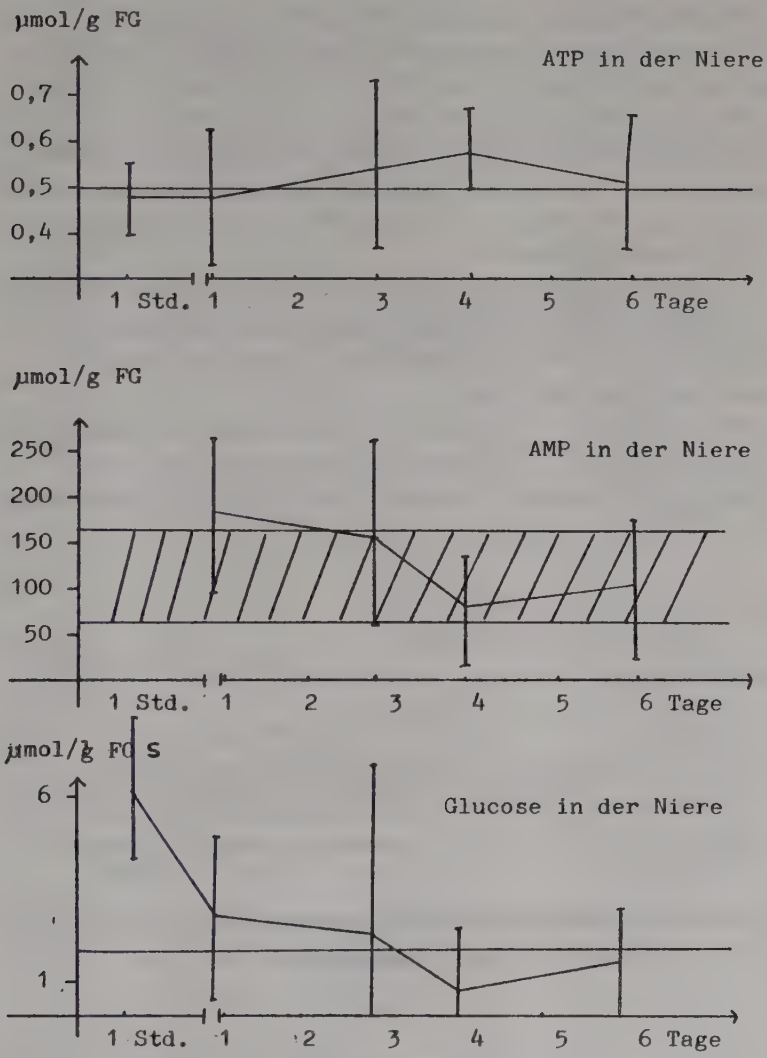

Abb.8: Konzentration an ATP, AMP und Glucose in der Niere nach vierstündiger Extremitätenischämie

In der Leber ist die Glucose außer am 6.Tag während des gesamten Versuches signifikant erhöht (Abb.9). Die Glucose steigt zunächst bis zum 1.Tag an und fällt dann, ähnlich dem Verlauf der Blutglucose (Abb.5), bis zum Ende des Versuchs kontinuierlich ab.

Während für Lactat keine Abweichung vom Normalwert nachgewiesen werden kann, ist Pyruvat ab dem 1.Tag erniedrigt und erreicht gegen Ende des Versuches am 6.Tag seinen tiefsten Punkt (Abb.10). Die Kurve für den Lac/Pyr-Quotienten hat einen zur Pyruvatkurve spiegelbildlichen Verlauf, weil das Lactat im Verhältnis zum Pyruvat relativ konstant bleibt (Abb.10).Der Lac/Pyr-Quotient ist ab dem 1.Tag signifikant erhöht.

Das ATP ist in der Leber während des gesamten Versuches erniedrigt. Es hat bereits am 1.Tag seinen ersten Tiefpunkt und fällt dann zwischen dem 3. und dem 6.Tag noch einmal stark ab (Abb.11).

Für DAP und F-1.6-P_2 können keine größeren Abweichungen vom Normalwert festgestellt werden, auffallen ist allenfalls der konstante Abfall des F-1.6-P_2 ab dem 3.Tag (Abb.11).

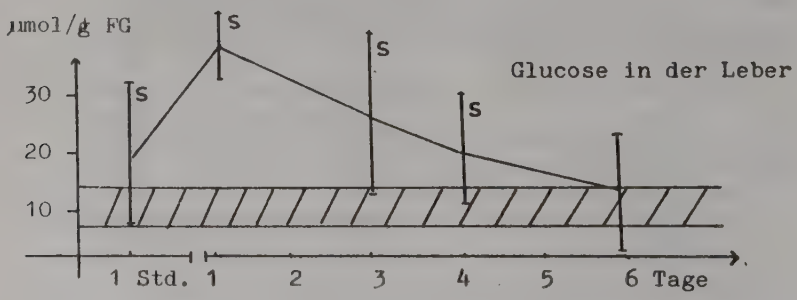

Abb.9: Glucosekonzentration in der Leber nach vierstündiger Extremitätenischämie

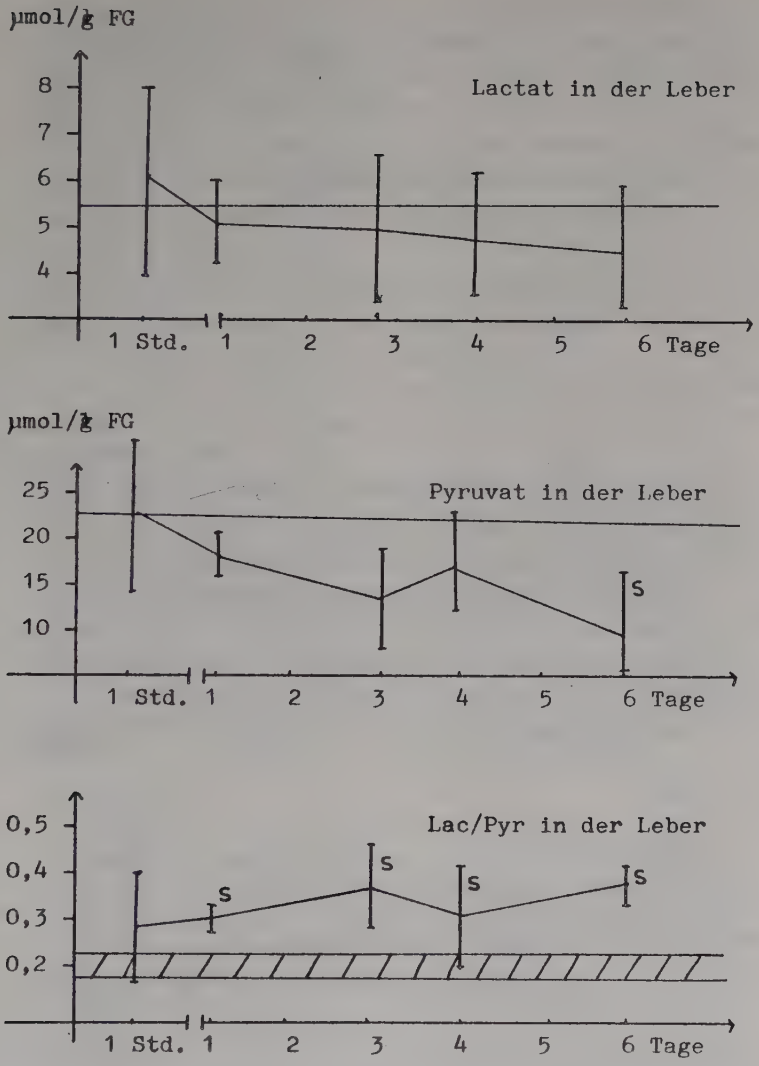

Abb.10: Lactat- und Pyruvat-Konzentration und Lac/Pyr-Quotient in der Leber nach vierstündiger Extremitätenischämie

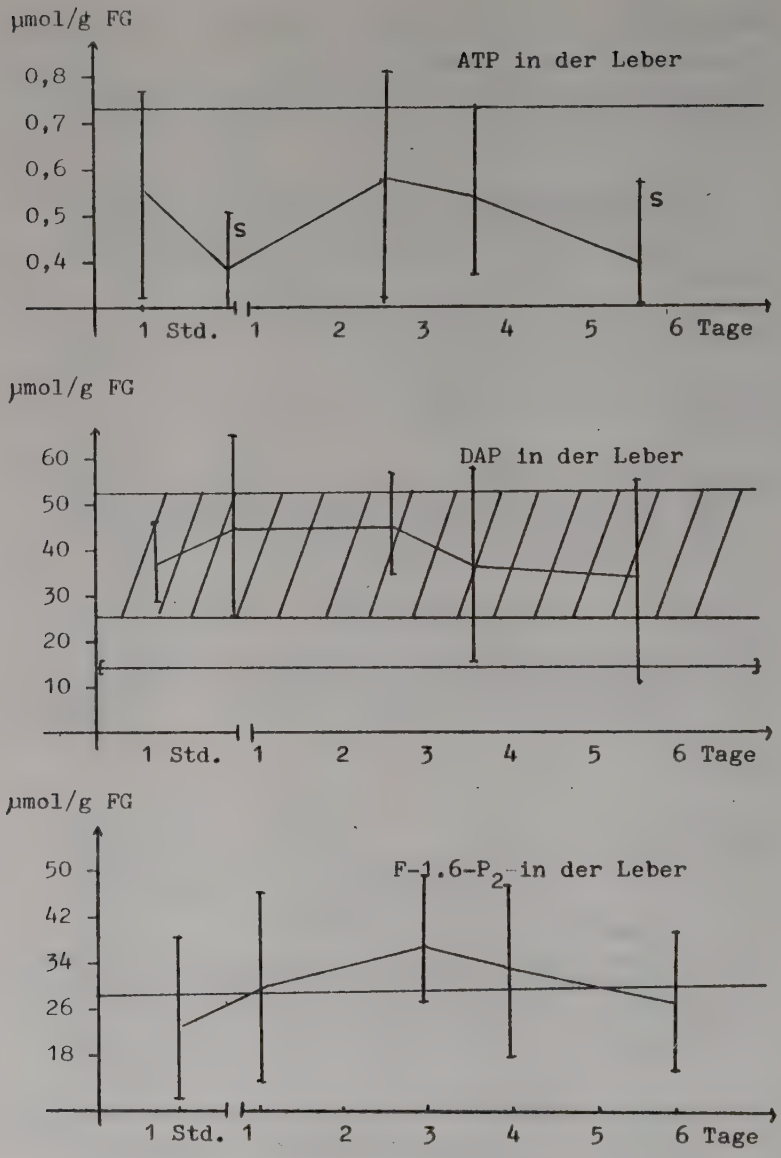

Abb.11: Konzentration an ATP, DAP und F-1.6-P_2 in der Leber nach vierstündiger Extremitätenischämie

Im Herz ist das F-1.6-P_2 nach 1 Stunde signifikant erniedrigt (Abb.12). Der Wert normalisiert sich bis zum 1.Tag, fällt aber zwischen dem 3. und dem 4.Tag noch einmal ab und steigt dann erneut an.

Das Lactat ist nach der 1. Stunde normal, fällt während des 1. Tages signifikant unter den Normalwert ab, steigt anschließend wieder an, jedoch nicht ganz bis zum Normalwert (Abb.12).

Das Pyruvat liegt während des gesamten Versuches leicht über dem Normalwert und steigt, nach einem geringen initialen Abfall am 1.Tag, an (Abb.13).

Der Lac/Pyr-Quotient liegt während des Versuches unter dem Normalwert, am 3.Tag ist er signifikant erniedrigt (Abb.13).

Das DAP ist nach 1 Stunde erhöht, fällt während des 1.Tages bis zum Normalwert und dann zwischen dem 3. und dem 4.Tag noch einmal ab (Abb.14). Am 4.Tag ist DAP signifikant erniedrigt, danach steigt es wieder an.

Die Glucose ist im Herzen außer nach der ersten Stunde im weiteren Verlauf signifikant erniedrigt (Abb.14).

Das ATP dagegen ist vom 1. bis zum 3.Tag signifikant erhöht, liegt aber sonst im Normbereich (Abb.14).

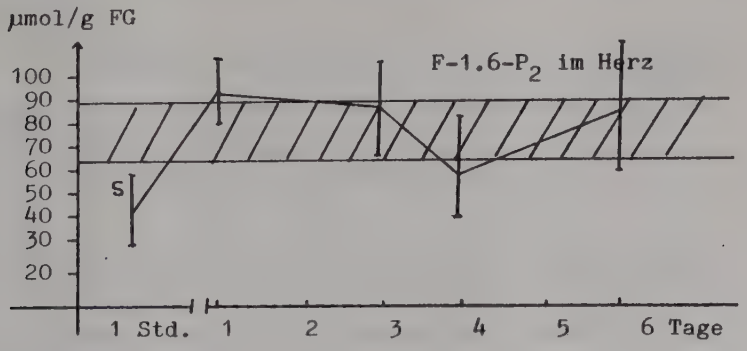

Abb.12: F-1.6-P_2-Konzentration im Herz nach vierstündiger Extremitätenischämie

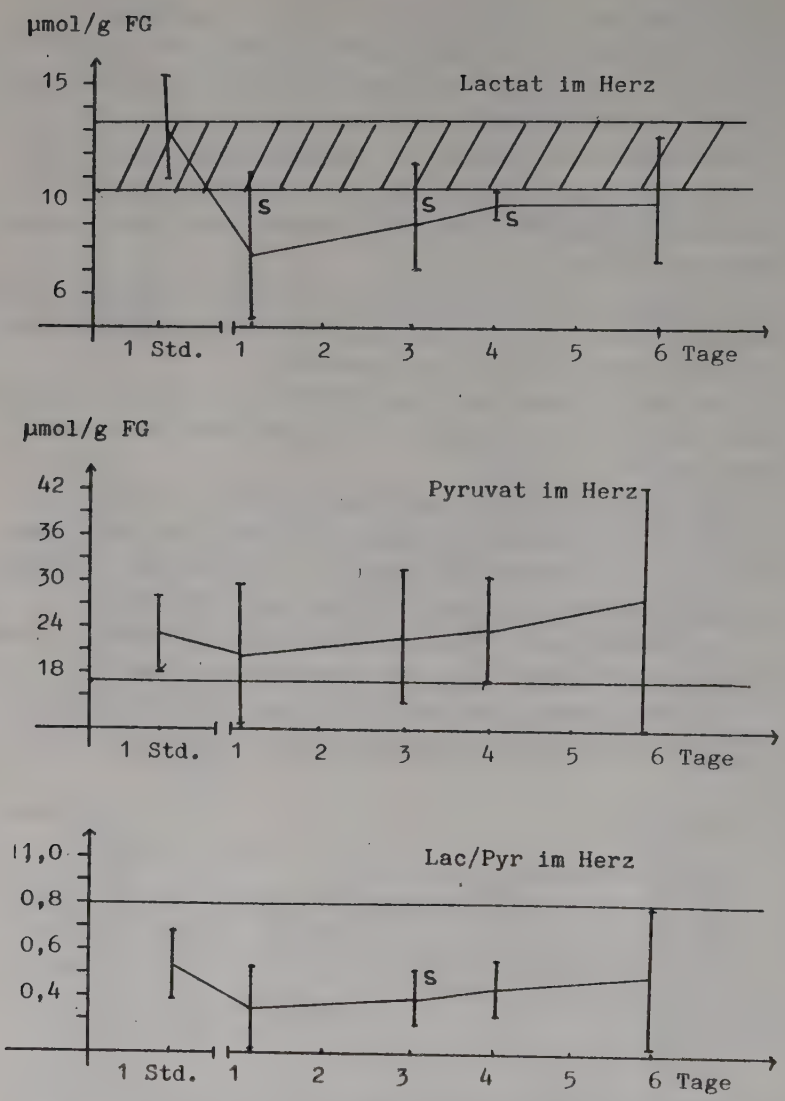

Abb.13: Lactat- und Pyruvat-Konzentration sowie Lac/Pyr-Quotient im Herz nach vierstündiger Extremitäten-ischämie

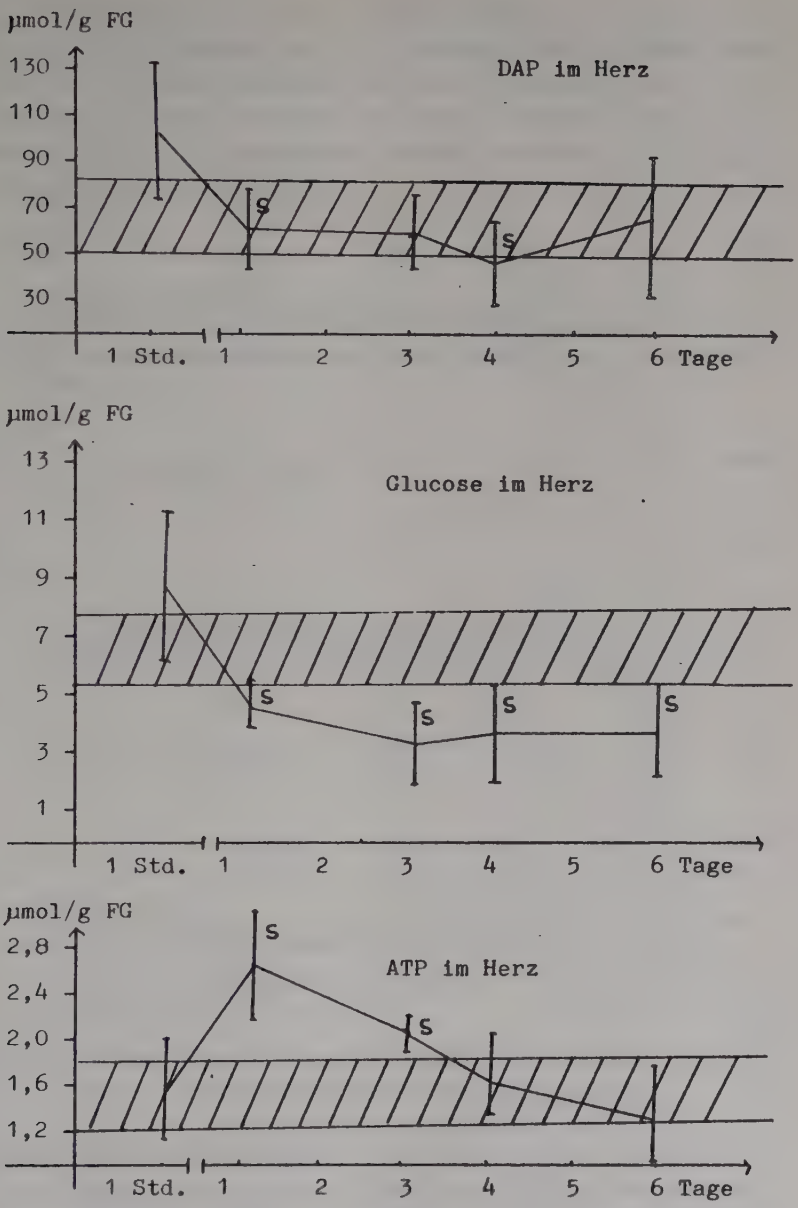

Abb.14: Konzentration an DAP, Glucose und ATP im Herz nach vierstündiger Extremitätenischämie

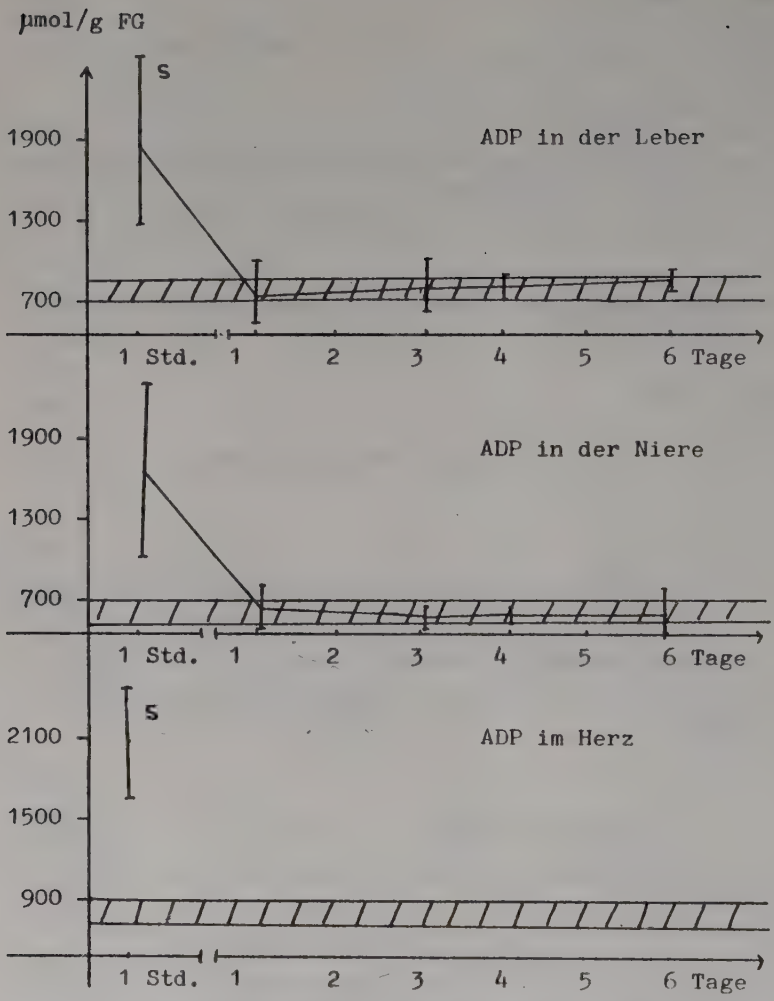

Abb.15: ADP-Konzentration in Leber, Niere und Herz nach vierstündiger Extremitätenischämie

Abschließend ist in Abb.15 der Verlauf des ADP's in allen Organen dargestellt. Auffallen sind die signifikant erhöhten ADP-Werte nach 1 Stunde in allen Organen, während im weiteren Verlauf das ADP in Leber und Niere im Normbereich liegt und auch gegen Ende des Versuchs nicht mehr

ansteigt. Beachtung sollte auch die Tatsache finden, daß sowohl der ADP-Normalwert als auch die Werte ab dem 1.Tag nur eine geringe Standardabweichung aufweisen. Im Herzen konnte die ADP-Bestimmung nur nach 1 Stunde durchgeführt werden, weil nicht genügend Gewebepulver für alle Bestimmungen zur Verfügung stand.

D. Diskussion der Ergebnisse

Sowohl nach dreistündiger als auch nach vierstündiger Ischämie ist im Blut nach 1 Stunde ein starker Anstieg des Lactats zu beobachten (Abb.2 und 3).Anhand klinischer Untersuchungen (SOLONEN et al. 1968, BORCHERT und DEPKA 1969, FISHER et al. 1970 und HALJAMAEE und ENGER 1975) und durch Tierexperimente (VAN DER MEER et al. 1966, EIGLER et al. 1969, WILGIS 1971, BENFER et al. 1973) konnte nachgewiesen werden, daß eine Extremitätenischämie nach Revaskularisation zu einem Abfall des pH-Wertes und einem Anstieg des Lactats im Blut führt. Bereits nach 1 Tag liegt das Blutlactat wieder im Normbereich (Abb.2 und 3). Dies stimmt mit den Ergebnissen von BENFER et al. (1973) und EIGLER et al. (1969) überein, die, allerdings bei kürzerer Ischämiedauer, einen Ausgleich der Azidose schon nach 1 Stunde feststellten.

Das Blut-Pyruvat zeigt einen ähnlichen Verlauf wie das Blut-Lactat (Abb.2 und 3). Es fällt jedoch auf, daß Pyruvat langsamer abfällt als Lactat (Abb.3), sodaß der Lac/Pyr-Quotient nach 1 Tag sogar erniedrigt ist (Abb.4). Am ehesten läßt sich dies damit erklären, daß wegen einer starken Adrenalinausschüttung die Pyruvatverwertung durch Einschleusung in den Zitronensäurezyklus zu diesem Zeitpunkt verlangsamt bzw. blockiert ist. Ein Anstieg des Pyruvats, der möglicherweise durch eine Pyruvatverwertungsstörung verursacht wird, konnte beim Herz beobachtet werden (Abb.13).

Ausdruck einer sympathoadrenalen Stimulation ist auch die vom 1. bis zum 4.Tag zu beobachtende Hyperglykämie (Abb.5). BENFER et al. (1973) konnten bei Kaninchen nach 2 1/2 stündiger Ischämie eine Hyperglykämie bereits nach 15 Minuten nachweisen. Der Abfall von AMP in der Niere (Abb.8) und der Anstieg des Pyruvats in Leber und Niere zwischen dem 3. und dem 4.Tag (Abb.7 und 10) sprechen dafür, daß sich in dieser Zeit die Adrenalinausschüttung und damit auch der Blutglucosespiegel normalisieren. In Niere und Leber wird nämlich durch Adrenalin die Pyruvat-

konzentration über eine Aktivierung der PEP-Carboxykinase wahrscheinlich über Vermittlung des c-AMP gesenkt (HIMMS-HAGEN 1967). Andererseits könnte die ab dem 4.Tag normale Blutglucose (Abb.5) jedoch auch Hinweis sein für eine Beeinträchtigung der Gluconeogenese trotz anhaltender Stimulation.

In Leber, Herz und Niere ist 1 Stunde nach Revaskularisation das ADP stark erhöht (Abb.15), während das ATP in diesen Organen zur selben Zeit nicht signifikant verändert ist (Abb.8, 11 und 14). Akute Blockaden der Energiegewinnung in der Zelle sind eher an Änderungen des ADP zu beobachten, weil das Verhältnis von ATP:ADP 1000:1 beträgt (FÖRSTER und MEHNERT 1973, BUDDECKE 1973). Für die Blockade der ATP-Produktion in der ersten Stunde sind zwei Deutungen möglich:

1. Durch die starke Lactazidose kommt es in den Mitochondrien zu einem reversiblen Ausfall der Atmungskette durch Beeinträchtigung der mikrosomalen Struktur.
2. Die starke Lactateinschwemmung in der Frühphase führt in allen Organen zu einer verstärkten Lactatoxydation:

$$\text{Lactat} + \text{NAD}^+ \longrightarrow \text{Pyruvat} + \text{NADH}_2$$

Der daraus resultierende $NADH_2$-Überschuß hemmt einerseits den Abbau des Pyruvats zu Acetyl-CoA, andererseits hemmt $NADH_2$ die Citrat-Synthetase (HEATH-THRELL-FALL 1970), welche die Startreaktion des Zitronensäurezyklus

$$\text{Oxalacetat} + \text{Acetyl-CoA} \longrightarrow \text{Citrat}$$

katalysiert.

Nach diese Interpretation wäre also eine Blockade des Zitronensäurezyklus in der Frühphase für den Anstieg des ADP's verantwortlich. Ob dabei eine erhöhte Adrenalinausschüttung, welche über langkettige Acyl-CoA-Verbindungen die Aktivität der Citrat-Synthetase ebenfalls herabsetzt (WIELAND und WEISS 1963), verstärkend wirkt, kann nicht entschieden werden.

Vergleicht man die Verlaufskurven von Glucose, ATP,DAP und Lactat im Herz mit den Ergebnissen von VAN DE LOO (1976)

beim Verbrennungsschock von Ratten, so fällt eine große Ähnlichkeit auf. Dies könnte ein Hinweis dafür sein, daß beim Tourniquet-Syndrom und beim Verbrennungsschock teilweise dieselben pathophysiologischen Mechanismen wirksam sind. Unter diesem Aspekt kann der Vergleich beider Arbeiten auf jeden Fall lohnend sein.

Im Herz ist die Glucose trotz starker Hyperglykämie nach 1 Tag vermindert (Abb.14). Eine Erklärung dafür bietet die Tatsache, daß Herz und Skeletmuskelzellen einen insulinabhängigen Carriermechanismus für Glucose besitzen. Relativer Insulinmangel und Erhöhung der FFS nach sympathoadrenaler Stimulation hemmen die Glucoseaufnahme in diese Zellen (HIMMS-HAGEN 1967). Dieser Effekt ist jedoch erst nach 1 Tag ausgeprägt zu beobachten. Die Abnahme der Glucose im Herzen läßt sich danach wie beim Verbrennungsschock (VAN DE LOO 1976) durch eine gesteigerte Adrenalinausschüttung erklären.

Im Gegensatz zum Verbrennungsschock (VAN DE LOO 1976) ist nach 1 Stunde das F-1.6-P_2 signifikant erniedrigt (Abb.12). Demnach ist beim Tourniquet-Syndrom in der Frühphase ein anders gearteter pathobiochemischer Mechanismus zu diskutieren. Am ehesten lassen sich die Veränderungen wiederum durch die gesteigerte Lactatoxidation und den daraus resultierenden $NADH_2$-Überschuß erklären: $NADH_2$ hemmt die PFK (HATHAWAY et al. 1965) und bewirkt dadurch einen Abfall des F-1.6-P_2. Die Nachfolgereaktion

$$DAP \longrightarrow GAP + NAD^+ \longrightarrow 1,3\text{-}DPG + NADH_2$$

wird durch einen $NADH_2$-Überschuß wegen des Mangels an NAD gehemmt: Dadurch ließe sich der DAP-Anstieg in der 1. Stunde erklären (Abb.14). Der Abfall von F-1.6-P_2 und DAP im Herz zwischen dem 3. und dem 4.Tag sprechen dafür, daß die PFK wegen Abfall des Adrenalins nicht mehr stimuliert wird, während die Hemmung durch die FFS bestehen bleibt. Ein Glucosemangel kann nicht die Ursache sein, weil die die Glucose im Herz zwischen dem 3. und dem 4.Tag konstant bleibt (Abb.14).

Der Anstieg des Pyruvats (Abb.13) findet eine Erklärung in der Pyruvatverwertungsstörung, die durch die streßdiabetische Stoffwechsellage verursacht wird: Insulinmangel und Adrenalinausschüttung verstärken die Lipolyse und führen in den Mitochondrien zu einer verstärkten ß-Oxidation. Acetyl-CoA und $NADH_2$ steigen an. Der Pyruvatabbau

$$Pyr + NAD \longrightarrow Acetyl\text{-}CoA + NADH_2$$

wird dadurch im Sinne der Produkthemmung blockiert. Außerdem vermindern das hohe $NADH_2$ und langkettige Acyl-CoA-Verbindungen über eine Blockade der Citrat-Synthetase die Eischleusung des Acetyl-CoA in den Zitronensäurezyklus (THRELLFALL 1970).

Wie beim Verbrennunsschock (VAN DE LOO 1976) weisen das erhöhte ATP (Abb.14) bei gleichzeitig erniedrigten Lactat und erniedrigtem Lac/Pyr-Quotienten daraufhin, daß das Herz während des Versuches weder durch Energie- noch Sauerstoffmangel bedroht ist.

Die Glucosekonzentration in der Niere zeigt einen der Blutglucose analogen Verlauf (Abb.5 und 8), d.h. der Glucosetransport in die Nierenzelle erfolgt wahrscheinlich nach dem Prinzip der erleichterten Diffusion. Dies stimmt mit den Ergebnissen von VAN DE LOO (1976) überein. Die stark erhöhte Glucose 1 Stunde nach Revaskularisation bei gleichzeitig erhöhtem DAP weist daraufhin (Abb.6), daß zu diesem Zeitpunkt ein adrenalinbedingter Glykogenabbau und eine gehemmte Glykolyse aufeinandertreffen. Die Hemmung der Glykolyse betrifft dabei wiederum den Schritt vom DAP zum 1,3-DPG, d.h. wie beim Herz ist dafür wahrscheinlich der durch die Lactatoxidation verursachte NAD-Mangel verantwortlich.

Die in der ersten Stunde zu erwartende PFK-Hemmung durch den $NADH_2$-Überschuß könnte bei der Niere durch O_2-Mangel in Folge autoregulativer Drosselung der Durchblutung bei Lactazidose durchbrochen sein. Hinweise dafür sind der erhöhte Lac/Pyr-Quotient und das noch nach einem Tag stark

erhöhte Lactat (Abb.7), obwohl zu diesem Zeitpunkt das Blutlactat bereits wieder im Normbereich liegt (Abb.3). O_2-Mangel zwischen dem 1. und dem 3.Tag würde auch die Aktivierung der PFK (REGEN und DAVIS 1961) und damit das erhöhte F-1.6-P_2 während dieser Zeit erklären (Abb.6). Der fehlende Abfall des F-1.6-P_2 am 1.Tag und die Erhöhung vom 1. bis zum 3.Tag läßt sich jedoch auch dadurch erklären, daß in der Niere die verstärkte Gluconeogenese, verursacht durch Adrenalin, zu einem Anstieg des F-1.6-P_2 führt, ohne daß ein Sauerstoffmangel vorliegt. Dasselbe nimmt VAN DE LOO (1976) beim Verbrennunsschock an. Der erhöhte Lac/Pyr-Quotient wäre dann durch den Abfall des Pyruvats erklärbar, das für die Gluconeogenese verwandt wird. Weitere Stützung findet diese Erklärungsmöglichkeit durch den gering ausgeprägten ATP-Abfall (Abb.8), der bei O_2-Mangel deutlicher zu erwarten wäre.

Der Pyruvatgehalt nimmt in der Leber bis zum 3.Tag kontinuierlich ab (Abb.10). Dies Ergebnis steht im Gegensatz zu demjenigen THRELLFALLs (1970), der beim Tourniquet-Schock eine Pyruvatzunahme in der Leber feststellte, stimmt jedoch mit den Ergebnissen VAN DE LOOs (1976) überein, der beim Verbrennungsschock in der Leber ebenfalls eine leichte Pyruvatabnahme beobachten konnte. Pyruvat in Leber und Niere weisen einen nahezu paralellen Verlauf auf (Abb.7 und 10). Eine Erklärung dafür bietet die Tatsache, daß beide Organe zur Gluconeogenese befähigt sind: Adrenalinausschüttung und relativer Insulinmangel führen über eine Aktivierung der PEP-Carboxykinase (HEATH und THRELLFALL 1968) zu einer verstärkten Gluconeogenese, wobei Pyruvat verbraucht. Der Pyruvatabfall vom 1. bis zum 3.Tag wäre somit auf die verstärkte Gluconeogenese in diesen Organen während der Adrenalinausschüttung, der Anstieg vom 3. bis zum 4.Tag auf den Abfall der adrenalen Stimulation zurückzuführen. Der erneute Pyruvatabfall vom 4. bis zum 6.Tag besonders in der Leber (Abb.10), könnte Hinweis für eine beginnende Leberinsuffizienz sein: Die Leber ist nicht mehr in der Lage, Pyruvat für die Gluconeogenese in aus-

reichender Menge bereitzustellen.

Daß es in der Leber nicht wie in den anderen Organen zu einem Anstieg des DAP kommt (Abb.11), liegt daran, daß in der Leber die Gluconeogenese eine weitaus größere Bedeutung hat als die Glycolyse (FÖRSTER und MEHNERT 1973). Das bei der Lactatoxidation anfallende $NADH_2$ wird bei der Reduktion des 1,3-DPG zu GAP in der Gluconeogenese verbraucht, ein $NADH_2$-Überschuß tritt deshalb nicht auf.

Die Leberglucose hat einen der Blutglucose weitgehend paralellen Verlauf (Abb.5 und 9). Dies stimmt mit den Ergebnissen von CAHILL (1959) überein, wonach der Glucosetransport zwischen Leberzelle und Blut nach dem Prinzip der freien oder erleichterten Diffusion erfolgt, steht jedoch im Gegensatz zu den Ergebnissen von VAN DE LOO (1976), der einen aktiven Transport während des Verbrennunsschocks annimmt.

Aus dem Verlauf der ATP-Kurve der Leber (Abb.11) ist zu entnehmen, daß dieses Organ am 1. und am 6.Tag einen deutlichen ATP-Mangel aufweist. Für den ATP-Mangel am 1.Tag bieten sich zwei Erklärungsmöglichkeiten an:

1. O_2-Mangel durch gedrosselte Durchblutung
2. Verbrauch des ATP für die gesteigerte Gluconeogenese

Wie bereits bei der Niere aufgeführt, können O_2-Mangel und eine gesteigerte Gluconeogenese zu gleichgerichteten Veränderungen von ATP, F-1.6-P_2 und dem Lac/Pyr-Quotienten führen. Es läßt sich deshalb nicht mit Sicherheit entscheiden, ob für den ATP-Abfall (Abb.11) und den erhöhten Lac/Pyr-Quotienten (Abb.10) O_2-Mangel oder eine gesteigerte Gluconeogenese ausschlaggebend sind. Für den zweiten ATP-Abfall in der Leber am 6.Tag bei gleichzeitigem Abfall von F-1.6-P_2 (11), DAP (Abb.11) und Pyruvat (Abb.10) bei starkem Anstieg des Lac/Pyr-Quotienten (Abb.10) ist dagegen am ehesten O_2-Mangel verantwortlich zu machen: Die Leber ist nicht mehr in der Lage, Pyruvat und ATP für die Gluconeogenese bereitzustellen und am Ende des Versuchs in zunehmendem Maße durch Sauerstoffmangel bedroht. Hinweis dafür ist auch der Verlauf der Leber- und Blutglucose (Abb.5 und

9), die am 6.Tag beinahe auf hypoglykämische Werte absinkt.

Abschließend kann man die beim Tourniquet-Syndrom zu beobachtenden biochemischen Veränderungen in drei Phasen einteilen:

Frühphase (1 Stunde nach Revaskularisation)
Sie ist gekennzeichnet durch

1. starke Lactazidose im Blut (Abb.2 und 3)
2. wahrscheinlich durch die Lactazidose bedingte akute Störung der Energiegewinnung in allen untersuchten Organen (Abb.15).
3. starke Lactatoxidation, welche zu $NADH_2$-Überschuß und damit einer Blockade NAD-abhängiger Reaktionen führt: GAP kann nicht mehr zu 1,3-DPG oxidiert werden, DAP und GAP werden zurückgestaut. Es resultiert ein Anstieg von DAP in Herz und Niere (Abb.6 und 14). $NADH_2$ hemmt außerdem die PFK (HATHAWAY et al. 1965), was zu einem Abfall des F-1.6-P_2 im Herz führt (Abb.12). In der Niere sind diese Veränderungen geringer, in der Leber überhaupt nicht ausgeprägt, weil dort das erhöht anfallende $NADH_2$ bei der Gluconeogenese verbraucht wird.

Die Zwischenphase (vom 1. bis zum 3.Tag) ist gekennzeichnet durch Rückbildung der Lactazidose und starke sympathoadrenale Stimulation: Trotz stark erhöhter Blutglucose ist die Herzglucose vermindert (Abb.5 und 14), das Herz wird dabei gut mit Sauerstoff versorgt: Der Lac/Pyr-Quotient ist abgesunken, das ATP erhöht (Abb.13 und 14). In Leber und Niere ist die Gluconeogenese verstärkt. Pyruvat und ATP sinken in beiden Organen ab (Abb.7, 8, 10 und 11), F-1.6-P_2 steigt an (Abb.6 und 11). Ob bei diesen Veränderungen auch Sauerstoffmangel eine Rolle spielt, läßt sich nicht entscheiden. Die Ergebnisse der Zwischenphase stimmen weitgehend mit den Ergebnissen die VAN DE LOO (1976) beim Verbrennungsschock fand, überein. Das spricht dafür, daß bei beiden Krankheitsbildern die pathobiochemischen Veränderungen zu dieser Zeit durch denselben Mechanismus verursacht werden, nämlich eine starke sympathoadrenale Stimulation.

Bezeichnend für die Spätphase (vom 4. bis zum 6.Tag) ist die Abnahme der Adrenalinausschüttung bei zunehmendem Mangel an Pyruvat und Sauerstoff in der Leber. Hinweise für die verringerte Adrenalinausschüttung liefern das Blut-ATP (Abb.5), das AMP in der Niere (Abb.8), F-1.6-P_2 in Leber und Niere (Abb.6 und 11) und Pyruvat in Leber und Niere (Abb.7 und 10).

Pyruvat und ATP in der Leber sind am 6.Tag stark abgesunken, der Lac/Pyr-Quotient ist stark erhöht(Abb.10 und 11). Die Hauptgefahr droht damit gegen Ende des Versuchs von einem akuten Leberversagen mit daraus resultierender Hypoglykämie.

E. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Metaboliten der Glykolyse und die energiereichen Phosphate ATP und ADP in Vollblut, Herz, Niere und Leber 1 Stunde, 1 Tag, 3 Tage, 4 Tage und 6 Tage nach drei- bzw. vierstündiger Extremitätenischämie bestimmt.

Am 1.Tag ist im Blut ein starker Anstieg des Lactats und Pyruvats zu beobachten. Eine Hyperglykämie besteht vom 1. bis zum 4.Tag.

Im Herz findet man neben einer Abnahme der Glucose, des Lactats und des Lac/Pyr-Quotienten eine Zunahme von ATP, was dafür spricht, daß dieses Organ während des Versuchs weder durch Energie- noch Sauerstoffmangel bedroht ist. Die starke Abnahme von F-1.6-P_2 bei gleichzeitig erhöhtem DAP in der 1. Stunde ist möglicherweise durch einen $NADH_2$-Überschuß in Folge einer gesteigerten Lactatoxidation verursacht.

In der Leber ist neben einem zweimaligen starken ATP-Abfall am 1. und am 6.Tag eine Abnahme des Pyruvats zwischen dem 1. und dem 3. sowie zwischen dem 4. und dem 6. Tag zu beobachten. Der Lac/Pyr-Quotient ist ab dem 1.Tag erhöht. Blut- und Leberglucose verlaufen in diesem Zeitraum paralell. Die Befunde sprechen dafür, daß die Leber gegen Ende des Versuchs zunehmend durch Sauerstoffmangel bedroht und deshalb nicht mehr ausreichend zur Gluconeogenese befähigt ist.

In der Niere findet man bis zum 3.Tag eine Erhöhung von Glucose, F-1.6-P_2, Lactat und dem Lac/Pyr-Quotienten bei gleichzeitig erniedrigtem ATP und fallendem Pyruvat. Für diese Veränderungen kann sowohl Sauerstoffmangel als auch Adrenalinüberschuß oder beide Faktoren zusammen verantwortlich sein.

In allen Organen ist nach 1 Stunde ein starker ATP-Anstieg zu verzeichnen. Als Erklärungsmöglichkeiten bieten sich ein weitgehender Ausfall der Atmungskette und ein Block im Zitronensäurezyklus an.

Bei einem Vergleich von Verbrennungsschock und Tourniquet-Schock konnte gezeigt werden, daß es in der Frühphase für das Tourniquet-Syndrom spezifische Veränderungen gibt, die wahrscheinlich durch eine starke Lactatoxidation und einem daraus folgendem $NADH_2$-Überschuß bedingt sind. Später finden sich wie beim Verbrennungsschock Anzeichen für eine starke Adrenalinausschüttung mit diabetischer Stoffwechsellage. Gegen Ende des Untersuchungszeitraumes ist ein drohendes Leberversagen und damit ein Zusammenbruch der Energieversorgung erkennbar.

F. Abkürzungen

ABTS	Diammoniumsalz der 2.2'-Azino-di-3-äthylbenz-thiazolinsulfonsäure-(6)
Ac-CoA	Acetylcoenzym A
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
AS	Aminosäure
ATP	Adenosintriphosphat
c-AMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CoA	Coenzym A
CPK	Creatinphosphokinase
DAP	Dihydroxyaceton-phosphat
DPG	Diphosphoglycerat
E	Extinktion
EZR	Extrazellulärraum
F	Fructose
FFS	Freie Fettsäuren
FG	Frischgewicht
F-6-P	Fructose-6-phosphat
F-1.6-P	D-Fructose-1.6-diphosphat
GAP	D-Glycerinaldehyd-3-phosphat
GAPD	Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase
GDH	Glycerol-3-phosphat-Dehydrogenase
GOD	Glucose-Oxydase
GP	Glycerin-phosphat
G-3-P	Glycerinaldehyd-3-phosphat
G-6-P	Glucose-6-phosphat
HMV	Herzminutenvolumen
Lac	Lactat
LDH	Lactat-Dehydrogenase
LPL	Lipoproteinlipase
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid, oxidiert
$NADH_2$	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid, reduziert = NADH + H^+
NADP	Nicotinamid-Adenin-Dinuceotidphosphat, oxidiert

$NADPH_2$	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotidphosphat, reduziert = NADPH + H^+
Oxalac	Oxalacetat
PEP	Phosphoenolpyruvat
PFK	Phosphofructokinase
PGA	Phosphoglycerat
PGK	3-Phosphoglycerat-phosphokinase
PGM	Phosphoglyceratmutase
POD	Peroxydase
Pyr	Pyruvat
Pyr-DH	Pyruvat-Dehydrogenase
Pyr-K	Pyruvat-Kinase
STH	Somatotropes Hormon
TGL	Triglycerid-Lipase
TIM	Triosephosphat-Isomerase

G. Literaturverzeichnis

1. ANDREE, R.A., D.W. WINGARD,and S. KOLETSKY: Saline therapy in tourniquet shock. Amer.J.Physiol. 190, 517 (1957).
2. ATKINSON, D.E., in GOODWIN, T.W. (ed.): Citrate and the citrate cycle in the regulation of energy metabolism. (Biochemical Society Symposia No 27), London and New York: Academic Press 1968.
3. BENFER, J., H. STRUCK, H.W. BAYER und W. SCHINK: Blutgasanalytische und enzymatische Befunde bei Tourniquet-Ischämie. Handchirurgie 5, 51-55 (1973).
4. BERGMEYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Aufl. Weinheim: Verlag Chemie 1970.
5. BIRKE, G., L.A. CARLSON, and S.-O. LILJEDAHL: Lipid metabolism and trauma. III. Plasma lipids and lipoproteins in burns. Acta med.scand. 178, 337-350 (1965).
6. BORCHERT, K. und D. DEPKA: Untersuchungen über den Einfluß der Blutleere auf den Säure-Basen-Haushalt. Zentralbl.Chir. 94, 1035-1040 (1969).
7. BRÜCKNER, U.B., H. HERRMANN, J. SCHMIER und H. ULMER: Sauerstoffverbrauch und O_2-Defizit im Tourniquet-Schock des Hundes. Z.Kreisl.-Forsch. 60, 545-556 (1971).
8. BRÜCKNER, U.B., D. OPHERK,und J. SCHMIER: Hämodynamische Veränderungen im Tourniquet-Schock des Hundes bei Proteinasehemmung und Volumensubstitution. Ärztl. Forsch. 26, 17-25 (1972).
9. BUDDECKE, E.: Grundriß der Biochemie, 4. Aufl. Berlin, New York: de Gruyter 1974.
10. BÜCHER, T.: Über ein Phosphatübertragendes Gärungsferment. Biochim.biophys.Acta (Amst.) 1, 292-314 (1947).
11. CAHILL, G.F., J. ASHMORE, A.E. RENOLD, and A.B. HASTINGS: Blood Glucose and the liver. Amer.J.Med. 26, 264-282 (1959).
12. CAREY, L.C., B.D. LOWEREY, and C.T. CLOUTIER: Blood sugar and insulin response of humans in shock. Ann. Surg. 172, 342-350 (1970).

13. CHIU, D., HSUEH HWA WANG, and M.R. BLUMENTHAL: Creatine Phosphokinase Release as a measure of Tourniquet Effect on skeletal muscle. Arch.Surg. 111, 71-74 (1976).
14. COLLAN, Y., and ALHO, A.: Ultrastructural changes of the kidney in tourniquet shock. Scand.J.Clin.Lab. Invest.Suppl. 27 (116), 53 (1971).
15. CZOK, R. und W. LAMPRECHT in H.U. BERGMEYER: Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Aufl. Weinheim: Verlag Chemie 1974.
16. DÄHLBACK, L.: Effects of tourniquet ischemia on striated muscle fibers and motor endplates: Scand.J. Plast.Reconst.Surg.Suppl. 7, 7-91 (1970).
17. DELORME, M.: Hemmung der Insulinwirkung durch die freien Fettsäuren beim Hund. Klin.Wschr. 43, 729-732 (1965).
18. DENTON, R.M., and P.J. RANDLE: Citrate and the regulation of adipose tissue phosphofructokinase. Bioch.J. 100, 420-423 (1966).
19. DUNANT, J., NOSBAUM, J.,and P. WAIBEL: Proceedings: metabolic changes during induced ischemia of the leg. J.Cardiovasc.Surg.(Torino) 14, 586-588 (1973).
20. EIGLER, F.W.: Das Tourniquet-Syndrom- Pathophysiologie und Klinik, in:Neue Aspekte der Trasylol-Therapie, Gewebeischämie und Mikrozirkulation, Band 7, S. 5-13, herausgegeben von K. Breddin, J. Eisenbach, G.L. Haberland, G. Schnells, Stuttgart, New York: F.K. Schattauer Verlag 1975
21. EIGLER, F.W., W. STOCK und I. HÖFER: Wirkung eines Proteinaseninhibitors auf das Tourniquet-Syndrom der Ratte. Z.ges.exp.Med. 151, 55 (1969).
22. FISHER, R.D., T.J. FOGARTHY, and A.G. MORROW: Clinical and biochemical observations of the effect of transient femoral artery occlusion in man. Surgery 68, 323-328 (1970).
23. FLENKER, H., W.H. VOIGT und I. HEIM: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Wirkung von Trasylol am Pankreas der Ratte nach temporärer

Ischämie, in: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie, Gewebeischämie und Mikrozirkulation, Band 7, S. 73-97, herausgegeben von K. Breddin, J. Eisenbach, G.L. Haberland, G. Schnells, Stuttgart, New York: F.K. Schattauer Verlag 1975.

24. FÖRSTER, H. und H. MEHNERT: Kohlenhydratstoffwechsel, in: SIEGENTHALER, W.: Klinische Pathophysiologie, 2. Aufl. Stuttgart: Thieme 1973.
25. HABERLAND, G.L.: Die Wirkung von Trasylol im Schockgeschehen, in: Neue Aspekte der Trasylol-Therape, Band 4, S. 109-116, Stuttgart, New York: F.K. Schattauer Verlag 1970.
26. HALJAMEE, H.,and E. ENGER: Human skeletal muscle energy metabolism during and after complete tourniquet ischemia. Ann.Surg. 182, 9-14 (1975).
27. HATHAWAY, J.A., and D.E. ATKINSON: Kinetics of regulatory enzymes: Effect of adenosine triphosphate on yeast citrate synthase. Biochem.biophys.Res.Commun. 20, 661-665 (1965).
28. HEATH, D.F., and C.J. THRELLFALL: The interaction of glycolysis, gluconeogenesis, and the tricarboxyclic cycle in rat liver in vivo. Biochem.J. 110, 337-362 (1968).
29. HELLER, W., E. BAUER, B. DOMRES, L. KOSLOWSKI, and K. SCHMIDT: The changes of fat metabolism after experimental burning. The 12th World Congress of the International Society for Fat Research, Milan (Italy), 2.-7. Sept. 1974.
30. HEUGEL, E., H. MOLZBERGER und W. ISSELHARD: Ödementwicklung und Erholung des Muskelstoffwechsels nach einseitiger Extremitätenischämie der Ratte nach Anwendung des Proteinaseninhibitors Trasylol. Langenbecks Arch.Klin.Chir.Suppl. 17, 36-51 (1973).
31. HILBE, G., E. HAGLEITNER, E. und G. MIGNON: Zur Genese und Therapie des sogenannten postischämischen Ödems. Med.Klin. 67, 703-709 (1972).

32. HIMMS-HAGEN, J.: Sympathetic regulation of metabolism. Pharmacol.Rev. 19, 367-461 (1967).
33. HOHORST, H.J., in BERGMEYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Aufl. Weinheim: Verlag Chemie 1970.
34. HUCKABEE, W.E.:
    a) Relationship of pyruvate and lactate during anaerobic metabolism. I. Effects of infusion of pyruvate or glucose and of hyperventilation. J.clin.Invest. 37, 244-252 (1958).
    b) Relationship of pyruvate and lactate during anaerobic metabolism. II. Exercise and formation of oxygen-debt. J.clin.Invest. 37, 255-263 (1958).
35. JAWOREK, D. in BERGMEYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse, Band II, 3. Aufl. S.2178 Weinheim: Verlag Chemie 1974.
36. KALKHOFF, R.K., K.R. HORNBROOK, H.B. BURCH, and D.M. KIPNIS: Studies of the metabolic effects of acute insulin deficiency. Diabetes 15, 451-456 (1966).
37. KARADY, S., HORPACSY, G., and A. OTTLECZ: Lysosomal changes in tourniquet shock and in shock resistance. Enzymol.Biol.Clin. 9, 261-275 (1968).
38. KOLETSKY, S.G., and G.E. GUSTAVSON: Fluid loss in rats with tourniquet shock.J.clin.Invest. 25, 744 (1946).
39. KORZ, R. und U. VOLZ-BOERS: Akutes Nierenversagen nach massiver Myolyse bei pseudo-myopathischer Polymyositis. Dtsch.med.Wschr. 99, 1084-1089 (1974).
40. KOSLOWSKI, L.:
    a) Autolyse-Krankheiten in der Chirurgie, 1. Aufl. Stuttgart:Thieme 1959.
    b) Zur Pathophysiologie und Allgemeinbehandlung schwerer Verbrennungen-neuere Einsichten und Erfahrungen. Chirurg 41, 385-390 (1970).
41. KRISTEN, H., F.W. EIGLER und W. STOCK: Zur Behandlung des Tourniquet-Syndroms mit Trasylol. Langenbecks Arch.Klin.Chir. 325, 292-299 (1969).

42. LAUBACH, K., M. TREDE und F.J. ROTH: Ursachen des Ödems nach femoro-popliteal en Wiederherstellungsoperationen. Langenbecks Arch.Klin.Chir., Suppl.Chir.Forum 363 (1972).

43. LEINBERGER, H., K. VAN ACKERN, U.B. BRUECKNER, J.E. DEUSTER, and J. SCHMIER: Contrary response of pulmonary resistance and platelets reaction during canine tourniquet shock. Pfluegers Arch.Eur.J.Physiol. 319, 33 (1970).

44. LEVANDOVSKI'I, I.V., V.V. LIAKHOVICH, A.V. PANOV, T.M. OKSMAN, ja V.V. KOVANOV: Vliianie ischemicheskogo toksina na membrany. Dokl.Akad.Nauk.SSSR 214, 1460-1462 (1974).

45. MARKLEY, K., E. SMALLMAN, and S. W. THORNTON: Protection against burn shock, tourniquet shock, and endotoxin shock by histamine, 5-hydroxy-tryptamine, and 5-hydroxy-tryptamine derivates. Br.J.Pharmacol. 42, 13-24 (1971).

46. MARKLEY, K., Z. HORAKOVA, E.T. SMALLMAN, and M.A. BEAVEN: The role of histamine in burn tourniquet and endotoxin shock in mice. Eur.J.Pharmacol. 33, 255-265 (1975).

47. MICHAL, G. und H.O. BEUTTLER in BERGMEYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Aufl. Weinheim: Verlag Chemie 1974.

48. MIGONE, L.: Metabolic aspects of shock, in BOCK, K.D. (ed.): Shock- Pathogenesis and therapy. Berlin: Springer 1962.

49. NAKAHARA, M.: Plasma hippuryl-l-lysine hydrolase in tourniquet shock. Experientia 29, 999-1000 (1973).

50. PANTELIC, D., and B. GRABARIC: Quantitative analysis of an experimental shock model tourniquet trauma. Iugoslav physiol pharmacol 3, 369-372 (1967).

51. PORTE, D., A.L. GRABER, T. KUZUYA, and R.H. WILLIAMS: The effect of epinephrine on immuno-reactive insulin levels in man. J.clin.Invest. 45, 228-236 (1966).

52. REGEN, D.M., W.W. DAVIS, and H.E. MORGAN: Regulation of hexokinase activity in muscle; effects of diabetes and anoxia on hexose phosphate levels. Fed.Proc. 20, 83 (1961).

53. RENGO, F., G. BREVETTI, G.G. BRACALE, S. MASCIARIELLO, B. TRIMARCO, L. DE CAPRIO, e G. CRITELLI: Comportamento di alcuni parametri metabolici durante la fase post-ischemica nel soggetto affetto da arteriopatia obliterante degli arti inferiori. Boll.Soc.Ital. Cardiol. 20, 1795-1800 (1975).

54. SACHS, L.: Angewandte Statistik- Planung und Auswertung, Methoden und Modelle. Zugleich 4. neubearbeitete und erweiterte Auflage der "Statistischen Auswertungsmethoden" mit neuer Bibliographie. Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1974.

55. SCHOENENBERGER, G.A., M. ALLGÖWER, F. BURKHART, W. MÜLLER, K. STÄDTLER und P. ZELLNER: Pathogenetische Bedeutung eines spezifischen kutanen Verbrennungstoxins für Infektion und Spätmortalität nach schweren Verbrennungen. Zbl.Chir. 99, 1089-1097 (1974).

56. SCHULZE, B. und H. KAFFARNIK: Biochemische Grundlagen der gestörten Wechselbeziehungen zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel bei Diabetes mellitus. Klin.Wschr. 48, 1147-1157 (1970).

57. SCHUMER, W., and J.C. KUKRAL: Metabolism of shock. Surgery 63, 630-636 (1968).

58. SOLONEN, K.A., L. TARKKANEN, S. NAERVAENEN, and R. GORDIN: Metabolic changes in the upper limb during tourniquet ischaemia, a clinical study. Acta Orthop. Scand. 39, 20-32 (1968).

59. STOCK, W., and F.W. EIGLER: Effect of a protease inhibitor in the tourniquet syndrome in the rat, improvement of survival time in tourniquet shock by trasylol. Z.gesamte exp.Med.exp.Chir. 151, 64-73 (1969).

60. STOCK, W., H. WELTER, G. HERRMANN, K. LAUTERJUNG, E. GEPPERT, W. SCHNIZER und W. ISSELHARD: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pathophysiologie des

postischämischen Extremitätenödems, in: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie, Gewebeischämie und Mikrozirkulation, Band 7, S.15-34, Stuttgart, New York: F.K. Schattauer Verlag 1975.

61. STONER, H.B.: Studies on the mechanism of shock. The effect of trauma on the toxicity of 3,5-dinitro-o-cresol and sodium fluoroacetate. Brit.J.exp.Path. 50, 277-284 (1969).
62. STROCK, P.E., and MANJO, G.: Microvascular change in acutely ischemic rat muscle. Surg.Gynecol.Obstet. 129, 309-318 (1969).
63. SWARTZ, W.M., C.J. CHA, M. AMBLER, and G.H. CLOWES jr.: Prolonged ischemia in the replanted rat leg: A biochemical and morphologic study with microvascular techniques. Surg.Forum 27, 565-568 (1976).
64. THRELLFALL, C.J.: Intermediary carbohydrate metabolism in injured rat liver in relation to heat production, in R. PORTER and J. KNIGHT (ed.): Energy metabolism in trauma, London 1970.
65. VAN ACKERN, K., U.B. BRUECKNER, J.E. DEUSTER, H. LEINBERGER, and J.SCHMIER: Acute changes in adhesive platelet count and pulmonary hemodynamics in tourniquet shock of dogs. Eur.Surg.Res. 5, 414-423 (1973).
66. VAN DE LOO, H.M.: Über den Metabolitgehalt von Glucose, Fructose-1.6-Diphosphat, Dihydroxyacetonphosphat, Glyceraldehydphosphat, Pyruvat, Lactat und Adenosintriphosphat im Muskel, in der Leber, in den Nieren und im Herz der Ratte in der Schockphase nach experimenteller Verbrennung bei 250°C. Inaugural-Dissertation Tübingen 1976.
67. VAN DER MEER, C., P.W. VALKENBURG, A.T.ARIENS, and R.M.J. VAN BENTHEIM: Cause of death in tourniquet shock in rats. Am.J.Physiol. 210, 513-516 (1966).
68. VERAGUT, U.P.: Metabolische Veränderungen im Schock. Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 77, 1239-1243 (1971).
69. VERAGUT, U.P., W. SIEGENTHALER und U. GRUBER: Schock, in SIEGENTHALER, W.(Herausgeber): Klinische Patho-

physiologie, 2. Aufl. Stuttgart:Thieme 1973.

70. WERNER, W., H.-G. REY und H. WIELINGER: Über die Eigenschaften eines neuen Chromogens für die Blutzuckerbestimmung nach der GOD/POD-Methode. Z.analyt.Chemie 252, 224-228 (1970).

71. WIELAND, O. und L. WEISS: Inhibition of citrate synthase by palmityl-coenzyme A. Biochem.biophys.Res. Commun. 13, 26-31 (1963).

72. WILGIS, E.F.: Observations on the effects of tourniquet ischemia. J. bone joint surg (Am) 53, 1343-1346 (1971).

H. Tabellenanhang

Auf den folgenden Seiten sind die Einzelwerte, die Mittelwerte und die Standardabweichungen der einzelnen Tiergruppen (Gruppeneinteilung s.S. 17) tabellarisch dargestellt. Bei der Signifikanzprüfung nach dem U-Test (s.S. 24) wurden jeweils die Einzelwerte der Gruppen B bis H mit den Einzelwerten der Gruppe A (Kontrolltiere) verglichen. Die daraus errechneten U-Werte sind in den Tabellen nur dann angegeben, wenn sie einen kritischen Wert unterschreiten und somit mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% anzeigen, daß der gefundene Mittelwert nicht zufällig vom Normalwert abweicht. Findet sich an dieser Stelle kein Wert, so ist die Abweichung vom Normalwert nicht signifikant. In den Tabellen werden folgende Abkürzungen verwendet:

$\bar{x}$ = Mittelwert
s = Standardabweichung
ns = nicht signifikant
DPG = 2.3-Diphosphoglycerat
F-P = D-Fructose-1.6-diphosphat
Glc = Glucose
L/P = Lactat/Pyruvat-Quotient

Die Werte für den L/P-Quotienten des Blutes sind mit dem Faktor 10^{-2} zu multiplizieren.

Tabelle1: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichung der Kontrollgruppe (Gruppe A und A')

a) im Blut:

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	DPG	ATP
1	4.55	299.0	1.52	--	3.78	0.88
2	2.88	224.4	1.28	--	3.12	0.78
3	3.86	301.4	1.28	--	3.11	0.68
4	2.68	156.2	1.71	8.1	3.51	0.93
5	2.22	158.1	1.40	7.71	2.96	0.74
6	3.49	204.6	1.71	8.73	3.45	0.71
7	4.04	242.4	1.66	7.71	--	--
8	3.40	119.0	2.8	7.84	--	--
$\bar{x}$	3.68	243.2	1.69	8.02	3.32	0.78
s	0.59	57.2	0.38	0.42	0.30	0.10

Tabelle 1: Fortsetzung

b) im Herz

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	F-P	DAP	ATP	ADP	AMP
1	12.4	17.67	0.7	5.37	--	--	1.52	711	--
2	11.4	21.39	0.53	5.85	88.7	51.84	1.76	745	--
3	11.2	--	--	6.68	57.4	51.8	1.74	848	--
4	13.9	24.18	0.57	7.23	73.0	75.2	1.08	812	--
5	10.9	--	--	8.58	83.5	88.1	--	--	--
$\bar{x}$	11.9	17.67	0.8	6.74	75.6	76.7	1.52	779	--
s	1.21	7.32	0.4	1.25	13.8	18.0	0.31	62.5	--

c) in der Leber

1	4.55	19.53	0.23	14.4	39.1	41.4	1.01	686	56.0
2	4.98	24.18	0.2	5.3	32.6	38.8	0.94	778	9.88
3	4.66	--	--	13.2	31.3	33.7	0.64	820	--
4	7.85	--	--	9.8	18.2	59.6	0.62	904	--
5	4.19	--	--	12.1	19.5	18.1	0.42	786	--
$\bar{x}$	5.24	21.8	0.21	10.9	28.1	38.3	0.72	795	--
s	1.48	3.2	0.02	3.6	8.9	14.9	0.24	78.6	--

d) in der Niere

1	5.3	13.02	0.4	--	22.1	25.9	0.42	494	162.2
2	5.47	18.6	0.29	--	13.0	18.1	0.62	491	98.8
3	5.12	18.6	0.28	1.65	15.6	--	0.60	657	--
4	7.23	26.04	0.27	--	--	15.5	0.50	570	136.7
5	5.47	16.74	0.32	--	14.3	23.9	0.36	712	50.2
$\bar{x}$	5.71	18.6	0.31	0.55	16.3	20.7	0.5	585	112.0
s	0.85	4.7	0.05	0.73	4.0	4.73	0.11	98.2	48.7

Tabelle 2: Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichung und U-Werte der Gruppe B und B' (1 Std. Ödemphase)

a) im Herz

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	F-P	DAP	ATP	ADP	AMP
1	10.3	18.6	0.55	5.33	53.4	70.0	1.31	2511	--
2	13.9	18.6	0.75	7.16	27.3	108.0	1.11	1753	--
3	13.2	27.9	0.47	9.83	48.2	80.3	1.92	1763	--
4	15.6	26.0	0.60	13.31	15.7	155.0	2.04	--	--
5	11.4	25.1	0.45	8.97	45.6	101.0	1.59	--	--
$\bar{x}$	12.9	23.2	0.56	8.92	38.1	103.0	1.59	2009	--
s	2.07	4.35	0.12	3.0	15.9	33.1	0.39	435	--
U	ns	ns	ns	ns	0.00	ns	ns	0.00	--

b) in der Leber

1	8.10	18.60	0.43	35.68	40.4	38.8	0.22	2325	--
2	3.62	19.53	0.18	18.54	41.7	25.9	0.43	2525	--
3	4.60	12.09	0.38	9.76	15.7	31.1	0.58	2035	--
4	7.49	24.18	0.31	15.49	16.7	44.0	0.68	1533	--
5	6.59	35.34	0.18	18.72	14.3	46.6	0.83	811	--
$\bar{x}$	6.08	22.17	0.29	19.63	25.8	37.3	0.54	1845	--
s	1.90	7.13	0.11	9.67	13.9	8.71	0.23	688	--
U	ns	ns	ns	4.00	ns	ns	ns	0.00	--

c) in der Niere

1	8.64	17.67	0.48	4.87	23.4	25.9	0.34	1407	--
2	4.05	24.18	0.16	3.72	11.7	--	0.44	2525	--
3	7.36	--	--	5.64	--	44.0	0.48	1859	--
4	9.97	16.74	0.59	8.81	16.9	46.6	0.53	1753	--
5	7.47	18.60	0.40	6.66	26.0	31.1	0.46	689	17.3
$\bar{x}$	7.49	19.29	0.4	5.94	19.5	36.9	0.45	1647	--
s	2.19	3.34	0.18	1.93	6.4	10.0	0.07	670	--
U	ns	ns	ns	0.00	ns	0.50	ns	0.00	--

Tabelle 2: Fortsetzung

d) im Blut

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	DPG	ATP
1	5.10	372.0	1.37	--	--	--
2	4.42	390.6	1.13	--	--	--
3	5.44	297.6	1.82	--	--	--
4	6.77	446.4	1.51	--	--	--
5	6.45	353.3	1.82	--	--	--
6	6.07	430.4	1.41	--	3.87	1.00
7	5.08	371.6	1.36	--	4.54	0.99
8	6.46	421.4	1.53	--	3.83	0.87
$\bar{x}$	5.76	389.8	1.49	--	4.08	0.95
s	0.64	15.2	0.23	--	0.39	0.07
U	1.00	1.00	ns	--	0.00	2.00

Tabelle 3: Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen und U-Werte der Gruppe C und C' (1 Tag Ödemphase)

a) im Blut

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	DPG	ATP
1	2.72	260.4	1.04	17.82	--	--
2	5.63	439.0	1.27	18.15	--	--
3	2.76	216.6	0.66	12.80	--	--
4	3.72	439.0	0.85	15.29	--	--
5	2.80	184.1	1.52	18.94	--	--
6	2.95	203.8	1.45	--	3.93	0.96
7	5.39	235.0	1.24	--	--	0.82
8	1.90	149.6	1.26	--	4.04	1.08
$\bar{x}$	3.39	323.4	1.16	16.6	3.98	0.95
s	1.04	60.1	0.29	2.5	0.08	0.13
U	ns	ns	0.50	0.0	0.00	2.00

Tabelle 3: Fortsetzung

b) im Herz

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	F-P	DAP	ATP	ADP	AMP
1	7.18	--	--	4.87	86.0	59.6	2.31	--	--
2	6.93	26.04	0.26	3.86	92.5	49.2	2.75	--	--
3	8.89	24.18	0.36	4.20	54.8	31.1	2.77	--	--
4	13.63	--	--	5.82	86.0	88.1	1.71	--	--
5	6.79	11.16	0.60	4.72	84.8	64.8	2.66	--	--
$\bar{x}$	8.68	20.46	0.40	4.69	80.8	58.6	2.44	--	--
s	2.89	8.10	0.17	0.75	14.9	20.1	0.44	--	--
U	4.00	ns	ns	1.00	ns	2.0	2.00	--	--

c) in der Leber

1	4.15	--	--	30.23	33.9	72.5	0.34	558	--
2	6.30	18.60	0.33	31.55	32.6	38.9	0.31	842	--
3	5.98	18.60	0.32	34.22	23.4	44.1	0.44	1194	--
4	4.98	--	--	24.84	53.4	31.1	0.44	--	--
5	4.38	14.88	0.29	34.66	14.3	25.9	0.61	834	--
$\bar{x}$	5.15	17.36	0.3	31.10	31.5	42.5	0.43	857	--
s	0.95	2.14	0.01	3.95	14.6	18.2	0.11	260	--
U	ns	ns	0.00	0.00	ns	ns	3.00	ns	--

d) in der Niere

1	7.67	--	--	2.41	--	--	0.44	494	176
2	8.53	17.67	0.48	2.45	26.1	5.2	0.33	801	272
3	5.75	18.60	0.30	3.40	19.6	7.8	0.37	629	182
4	7.51	--	--	6.62	15.6	31.1	0.69	--	--
5	7.17	16.76	0.43	0.00	36.5	28.5	0.45	775	72
$\bar{x}$	7.32	17.67	0.40	3.72	24.5	18.1	0.45	675	176
s	1.01	0.92	0.09	1.98	9.1	13.5	0.13	142	181
U	2.00	ns	ns	1.00	ns	ns	ns	ns	ns

Tabelle 4: Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen und U-Werte der Gruppe D und D' (3 Tage Ödemphase)

a) im Herz

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	F-P	DAP	ATP	ADP	AMP
1	9.23	18.6	0.49	--	--	--	--	--	--
2	9.85	31.6	0.31	--	87.3	57.0	2.13	--	--
3	6.78	--	--	1.48	86.1	36.3	2.13	--	--
4	12.77	--	--	3.99	65.2	51.8	1.94	--	--
5	8.67	17.6	0.49	3.99	104.3	80.3	1.87	--	--
$\bar{x}$	9.46	22.6	0.43	3.15	75.9	56.5	2.01	--	--
s	2.17	7.7	0.10	1.44	18.0	18.2	0.13	--	--
U	3.00	ns	1.00	1.00	ns	ns	0.00	--	--

b) in der Leber

1	4.77	11.2	0.42	26.3	35.2	46.4	0.93	1094	--
2	6.64	21.4	0.31	17.6	30.0	44.0	0.45	660	--
3	5.94	13.9	0.42	27.3	41.7	28.5	0.43	717	--
4	4.99	11.2	0.44	32.6	26.0	51.8	0.75	806	--
5	2.61	10.2	0.25	--	46.9	41.4	0.34	779	--
$\bar{x}$	4.99	13.5	0.36	23.3	35.9	42.5	0.58	811	--
s	1.52	4.6	0.08	8.0	8.4	8.7	0.24	167	--
U	ns	ns	1.00	0.0	ns	ns	ns	ns	

c) in der Niere

1	5.37	24.2	0.44	0.00	--	--	0.59	534	256
2	6.71	13.0	0.27	11.90	29.9	33.7	0.41	--	--
3	6.26	14.9	0.48	0.60	26.1	--	0.74	--	--
4	7.78	14.9	0.52	0.00	23.5	28.5	0.38	465	157
5	4.48	12.0	0.30	0.00	13.0	31.1	0.44	642	53
$\bar{x}$	6.12	15.8	0.40	2.50	23.1	26.5	0.51	547	155
s	1.26	4.8	0.11	5.20	7.2	9.3	0.15	89	101
U	ns	ns	ns	ns	ns	0.0	ns	ns	ns

Tabelle 4: Fortsetzung

d) im Blut

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	DPG	ATP
1	2.11	275.2	0.76	6.11	--	--
2	5.96	312.5	1.92	21.09	--	--
3	5.33	342.2	1.55	9.95	--	--
4	6.98	340.4	2.05	14.22	--	--
5	1.57	156.2	1.00	8.13	--	--
6	2.64	133.6	2.00	--	2.9	1.38
7	2.85	149.6	1.90	--	2.4	0.67
8	2.27	129.2	1.74	--	--	1.18
$\bar{x}$	3.52	227.8	1.61	11.90	2.7	1.07
s	1.67	91.8	0.47	5.94	0.3	0.36
U	ns	ns	ns	ns	0.0	ns

Tabelle 5: Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichung und U-Werte der Gruppe E und E' (4 Tage Ödemphase)

a) im Blut

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	DPG	ATP
1	2.79	169.2	1.64	7.51	--	--
2	5.23	239.9	2.17	8.44	--	--
3	4.04	241.8	1.68	8.00	--	--
4	2.38	178.1	1.48	7.13	--	--
5	4.77	213.9	2.25	7.53	--	--
6	6.46	256.0	2.52	--	3.2	0.78
7	5.36	357.8	1.48	--	3.0	0.65
8	3.68	278.6	1.31	--	2.8	0.82
$\bar{x}$	4.31	333.2	1.81	7.72	3.0	0.75
s	0.99	18.9	0.43	0.50	0.2	0.08
U	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Tabelle 5: Fortsetzung

b) im Herz

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	F-P	DAP	ATP	ADP	AMP
1	10.39	22.32	0.46	2.11	37.8	31.1	1.42	--	--
2	10.08	20.46	0.48	4.21	84.8	67.4	1.95	--	--
3	10.59	31.62	0.34	3.01	52.2	49.2	1.83	--	--
4	10.70	17.64	0.60	1.91	26.0	25.9	1.15	--	--
5	9.48	--	--	6.31	62.6	33.7	1.93	--	--
$\bar{x}$	10.24	23.01	0.47	3.51	52.6	41.4	1.65	--	--
s	0.48	6.05	0.10	1.80	22.6	16.8	0.35	--	--
U	0.00	ns	ns	2.00	ns	2.0	ns	--	--

c) in der Leber

1	4.52	10.23	0.44	17.5	35.2	28.5	0.51	763	--
2	6.15	21.39	0.31	28.1	52.1	69.9	0.71	786	--
3	3.98	16.74	0.23	21.2	16.9	25.9	0.41	812	--
4	3.56	11.16	0.32	18.4	27.3	12.9	0.37	820	--
5	4.78	23.25	0.20	9.4	32.6	36.2	0.83	639	--
$\bar{x}$	4.71	16.55	0.30	18.9	32.8	34.7	0.56	764	--
s	1.23	5.85	0.09	6.7	12.8	21.4	0.19	73.7	--
U	ns	ns	0.50	4.0	ns	ns	ns	ns	--

d) in der Niere

1	6.10	18.60	0.32	0.00	16.9	25.9	0.62	684	--
2	6.87	19.53	0.34	0.47	19.5	31.1	0.53	450	135.1
3	5.74	22.32	0.25	3.36	22.1	31.1	0.48	668	28.0
4	5.80	16.74	0.36	0.00	16.9	31.1	0.46	545	107.0
5	5.73	24.18	0.23	0.00	16.9	--	0.60	629	79.9
$\bar{x}$	6.04	20.27	0.30	0.76	18.5	29.8	0.53	595	73.3
s	0.48	2.97	0.05	1.40	2.3	2.5	0.06	97.3	51.0
U	ns	ns	ns	ns	ns	0.5	ns	ns	ns

Tabelle 6: Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen und U-Werte der Gruppe F und F' (6 Tage Ödemphase)

a) im Herz

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	F-P	DAP	ATP	ADP	AMP
1	7.84	--	--	4.93	66.5	36.2	1.70	--	--
2	10.59	30.69	0.34	2.45	28.7	25.9	--	--	--
3	8.12	10.23	0.79	3.25	78.2	51.8	1.93	--	--
4	10.83	46.50	0.23	1.52	100.4	62.2	0.96	--	--
5	14.05	20.46	0.68	5.61	105.6	103.6	1.12	--	--
$\bar{x}$	10.28	26.97	0.51	3.55	75.8	55.9	1.42	--	--
s	2.51	15.46	0.26	1.70	30.8	30.0	0.46	--	--
U	ns	ns	ns	1.00	ns	ns	ns	--	--

b) in der Leber

1	3.44	9.30	0.36	17.48	20.8	31.1	0.41	802	--
2	4.12	13.02	0.31	9.07	14.3	15.5	0.36	942	--
3	3.60	--	--	6.89	36.5	69.9	0.61	797	--
4	5.67	13.95	0.40	30.57	39.1	38.8	0.30	819	--
5	5.64	14.88	0.37	13.64	29.9	--	0.47	758	--
$\bar{x}$	4.49	10.78	0.36	15.53	28.1	32.6	0.43	824	--
s	1.08	4.94	0.03	9.35	10.4	24.2	0.11	69.6	--
U	ns	0.00	0.00	ns	ns	ns	2.00	ns	--

c) in der Niere

1	5.33	20.46	0.26	3.37	22.1	18.1	0.65	683	31.3
2	4.61	13.02	0.35	1.10	--	--	0.50	--	--
3	5.33	16.74	0.31	3.01	13.0	10.3	0.61	542	101.3
4	8.11	19.53	0.41	0.00	24.7	31.1	0.31	--	--
5	6.28	16.74	0.37	0.40	27.3	--	0.39	394	174.6
$\bar{x}$	5.93	17.29	0.34	1.57	21.8	19.8	0.49	540	102.4
s	1.35	2.91	0.05	1.52	6.2	10.4	0.14	144	71.6
U	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Tabelle 6: Fortsetzung

d) im Blut

Nr.	Lac	Pyr	L/P	Glc	DPG	ATP
1	2.31	132.7	1.75	7.82	--	--
2	3.06	241.8	1.25	6.55	--	--
3	3.13	139.5	2.20	7.77	--	--
4	5.27	411.0	1.30	8.13	--	--
5	5.84	303.1	1.94	7.71	--	--
6	2.80	201.6	1.40	--	3.11	0.81
7	4.01	276.8	1.48	--	3.09	0.74
8	5.01	237.8	2.11	--	3.41	0.69
$\bar{x}$	3.88	116.3	1.67	7.59	3.20	0.74
s	1.06	28.5	0.37	0.60	0.17	0.06
U	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Tabelle 7: Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen und U-Werte der Gruppe G (3 Std. Ischämie, 1 Std. Ödemphase)

im Blut

Nr.	Lac	Pyr
1	7.38	493.8
2	5.11	330.8
3	5.59	285.4
$\bar{x}$	6.02	370.0
s	1.19	109.6
U	0.00	1.0

Tabelle 8: Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichungen und U-Werte der Gruppe H (3 Std. Ischämie. 1 Tag. Ödemphase)

im Blut

Nr.	Lac	Pyr
1	3.33	233.4
2	5.16	389.6
3	2.89	167.8
$\bar{x}$	3.79	263.5
s	1.20	114.0
U	ns	ns

Herrn Prof. Dr. J. Durst und Herrn Prof. Dr. W. Heller danke ich für die Überlassung des Themas, ihre wertvollen Ratschläge und Diskussionsanregungen ebenso wie für die freundliche Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit.

Herrn S. Fischer, Frl. R. Hauck, Frl. G. Jobbagi und Frl. L. Wundt danke ich für die Durchführung der Analysen.

Herrn G. Schubring vom Rechenzentrum für Datenverarbeitung der Universität Tübingen danke ich für die statistische Berechnung der experimentellen Daten.

LEBENSLAUF

Am 5.Oktober 1952 wurde ich, Michael Parys, als Sohn des Alfred Parys und seiner Ehefrau Anna geb. Wagner in Rottweil geboren.
Nach dem Besuch der Grundschule von 1959—63 trat ich in das humanistische Albertus-Magnus-Gymnasium in Rottweil ein, an dem ich am 8.Juni 1971 die Reifeprüfung ablegte.

Im WS 1971/72 begann ich mit dem Medizinstudium an der Universität Tübingen. Im Frühjahr 1974 bestand ich das Physikum. Den 1.Teil der Ärztlichen Prüfung legte ich im März 1975 ab, den 2.Teil im März 1977 und beendete nach dem Praktischen Jahr am Akademischen Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen in Ruit Kr. Eßlingen am 26.April 1978 mit dem Bestehen des 3.Teils der Ärztlichen Prüfung das Medizinstudium.
Seit 2.Mai 1978 arbeite ich am selben Krankenhaus als Assistenzarzt auf der Chirurgischen Abteilung.